

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Des Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue d'obtention du diplôme

Master

Thème

Valorisation d'un sous-produit de la raffinerie du sucre
Cevital « la mélasse » pour la production d'un
biocarburant « Bioéthanol »

Présenté par :

BENALAOUA Belkacem & DIB Elhadi

Soutenu : **juin 2023**

Devant le jury composé de :

M ^{me} MERZOUK Hafida	MCA	Présidente
M ^{me} TOUATI Naima	MCA	Promotrice
Mr BOUDJOUAN Fares	MCA	Promoteur
M ^{me} BRAHMI Fatiha	MCA	Examinatrice

Année Universitaire : 2022/2023

Dedicaces

“ Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui nous ont apporté leur aide et leurs encouragements tout au long de notre parcours. À ceux qui ont cru en nous et ont été une source de soutien inébranlable, nous exprimons notre reconnaissance et notre gratitude sincères.

En particulier, je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à mes parents, qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours universitaire et de ma vie. Leur amour et leur soutien indéfectibles ont été essentiels à ma réussite. Je souhaite également exprimer ma gratitude envers ma famille et mes chers amis qui m'ont accompagné et soutenu dans la réalisation de ce travail. En particulier, je souhaite remercier Bilal, qui a toujours été présent pour moi, ainsi que Mammasse Sabri, qui a été à mes côtés tout au long de cette expérience.

Je tiens à souligner que sans leur aide précieuse, ce travail n'aurait pas été possible. Leur soutien, leurs encouragements et leurs conseils avisés ont été des éléments déterminants de ma réussite. Merci du fond du cœur à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Votre présence et votre soutien ont été d'une valeur inestimable.

”

- Belkacem Benalaoua

Remerciements

Tout d'abord, nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers le bon Dieu qui nous a accordé la foi, le courage et la santé nécessaires pour mener à bien et achever ce modeste travail de fin d'études.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice, Mme Touati, et notre promoteur, M. Boudjouan, pour leur sérieux et leur précieuse guidance tout au long de ce projet. Leur expertise et leur soutien ont été inestimables.

Nous aimerions également exprimer notre reconnaissance envers les membres du laboratoire d'analyse physicochimique de la raffinerie de sucre au sein du complexe CEVITAL et laboratoire de Microbiologie alimentaire à leurs têtes Mme MERZOUK Hafida. Leur collaboration et leurs contributions ont grandement enrichi notre recherche.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué de manière significative à la réalisation de ce mémoire. Votre soutien et vos encouragements ont été d'une importance capitale.

Nous sommes profondément reconnaissants envers tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail et nous leur exprimons notre gratitude la plus sincère.

Liste des tableaux

I	Résultats des analyses physico-chimiques de la mélasse.....	24
II	Mesures de densité et pureté du bioéthanol.....	25
III	Corrélation entre le nombre de levure et teneur en sucre du milieu de culture.	33
IV	Tableau des valeurs propres	33

Liste des figures

Figure. 1	Schéma de la levure	6
Figure. 2	Réaction de synthèse de l'éthanol.....	10
Figure. 3	schéma global de la glycolyse	11
Figure. 4	Schéma globale de la procédure de production de bioéthanol.....	14
Figure. 5	Schéma représentatif du processus d'hydrodistillation.....	15
Figure. 6	Brixmètre.....	18
Figure. 7	Polarimètre	19
Figure. 8	Évolution temporelle du nombre de levures lors de la fermentation mesurée avec la méthode de la chambre de comptage de Malassez.	26
Figure. 9	courbe de croissance des levures <i>Saccharomyces cerevisiae</i> lors la fermentation en fonction du temps.....	27
Figure. 10	Teneur en sucre en fonction de temps	28
Figure. 11	Histogramme représentant la teneur en sucre avant et après la fermentation	29
Figure. 12	Spectre FTIR du bioéthanol obtenu à partir de la mélasse par distillation.	31
Figure. 13	Spectre FTIR de la mélasse restante après distillation.	32
Figure. 14	Histogramme des valeurs propres	33
Figure. 15	Cercle de corrélation du nombre de levures et teneur en sucre.....	34
Figure. 16	Diagramme de double projection	34

Liste des annexes

Annexe I. Récupération de la mélasse de « CEVITAL ».....	45
Annexe II. Courbe d'étalonnage	51
Annexe III. Concentrations gravimétriques.....	52
Annexe IV. Spectre IR.....	53
Annexe V. Variables.....	54

Table des matières

Introduction	1
Partie Théorique	
I Généralités	3
1 La mélasse	3
1.1 Définition	3
1.2 Utilisations	3
2 Le bioéthanol	4
2.1 Définition	4
2.2 Utilisations	5
3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6
3.1 Taxonomie	6
3.2 Nutrition et les conditions de culture	7
3.2.1 Source de carbone	7
3.2.2 Azote	7
3.2.3 Sels et Minéraux	7
3.3 Avantages de la souche en industrie	8
3.4 Fermentation alcoolique	8
3.5 Paramètres de fermentation	8
3.5.1 Composition du milieu	8
3.5.2 L'éthanol	9
3.5.3 Température	9
3.5.4 Oxygène	9
3.5.5 Pression osmotique	9
3.5.6 Acidité	9
3.5.7 L'inoculum	10

3.6	Métabolisme de synthèse éthanolique	10
3.6.1	Glycolyse.....	11
3.6.2	Réactions de transformation du pyruvate en éthanol.....	12
3.7	Avantages et inconvénients du bioéthanol comme carburant	12
3.8	Avantages.....	12
3.9	Inconvénients	13
3.10	Procédure de production.....	14
3.11	Hydrodistillation.....	14

Partie Expérimentale

II Matériel et méthodes 17

1	Matériel biologique.....	17
2	Analyse physico-chimique de la mélasse pure de «CEVITAL»	17
2.1	Brix	17
2.2	Polarisation.....	18
2.3	Pureté.....	19
3	Fermentation éthanolique de la mélasse	19
3.1	Mode opératoire.....	19
4	Dosage des sucres totaux par méthode d'anthrone	20
5	Procédé de distillation.....	21
6	Analyse de l'éthanol par spectroscopie infrarouge.....	22
7	Analyse statistique (Analyses en Composantes Principales (ACP))	23

III Résultat et discussion 24

1	Analyses physico-chimiques	24
2	Identification et calcul de la densité, concentration et pureté de bioéthanol obtenu	25
3	Dénombrement des levures à l'aide de la chambre de Malassez.....	26
4	Croissance des levures lors de la fermentation.....	27
4.1	Analyse de l'évolution de la teneur en sucre en fonction de temps.....	28
5	Analyses spectroscopie infra-rouge.....	30
6	Analyse statistique des échantillons.....	33

Conclusion 36

Introduction

La mélasse, un sous-produit issu de la transformation de la canne à sucre ou de la betterave en sucre, renferme une grande quantité de sucres fermentescibles tels que le saccharose, le glucose et le fructose. Ces sucres peuvent être convertis en bioéthanol grâce à la fermentation alcoolique utilisant principalement des levures comme *Saccharomyces cerevisiae* (Smith, 2014). L'utilisation de la mélasse pour produire du bioéthanol présente de nombreux avantages professionnels. Tout d'abord, cela permet de valoriser un sous-produit habituellement considéré comme un déchet et d'en faire une source de valeur. De plus, cette pratique utilise une matière première abondante et peu coûteuse pour produire une source d'énergie renouvelable. Enfin, elle contribue à réduire la dépendance aux énergies fossiles et à atténuer les effets néfastes sur l'environnement en réduisant les émissions de gaz à effet de serre (Lali, 2015 ; Almodares, 2018). La production de bioéthanol à partir de la mélasse repose sur un processus bien établi et largement utilisé dans l'industrie, comprenant différentes étapes telles que la préparation de la mélasse, la fermentation alcoolique, la distillation et la purification (Singh and Jain, 2018 ; Amornpan and Ketjoy, 2020). En termes d'avantages économiques, l'utilisation de la mélasse pour la production de bioéthanol favorise la création d'emplois dans les secteurs de la canne à sucre, de la betterave et de l'industrie de production d'éthanol. Dans ce contexte, la production d'énergie représente un défi crucial de notre époque (Smith et al., 2019) . Les ressources fossiles, notamment le pétrole, sont limitées et ont des effets néfastes sur l'environnement (Johnson, 2018). Par conséquent, il est essentiel de favoriser la production d'énergie à partir de sources renouvelables et durables afin d'assurer la durabilité de notre développement économique. Dans cette perspective, l'exploitation de la mélasse comme matière première pour la production de bioéthanol présente une piste prometteuse à explorer (Brown, 2021).

Dans le cadre de notre mémoire, notre objectif est d'explorer l'hypothèse et d'évaluer les avantages potentiels de l'utilisation de la mélasse dans la production de bioéthanol, en mettant en œuvre le procédé de fermentation anaérobie avec la souche de levures *Saccharomyces cerevisiae*. Afin de surveiller les changements biochimiques et d'évaluer la qualité de la fermentation, nous avons réalisé des analyses physicochimiques et biochimiques sur la mélasse avant et après la fermentation alcoolique. Ces analyses comprenaient le dosage des sucres totaux et la mesure de la densité de l'éthanol. En outre, une hydrodistillation a été effectuée pour récupérer le bioéthanol, et nous avons également réalisé des analyses pour évaluer la qualité de l'éthanol obtenu après ce processus.

Partie Théorique

I | Généralités

1 La mélasse

1.1 Définition

La mélasse de canne à sucre est un sous-produit du raffinage du sucre qui est obtenu lors de la cristallisation du sirop de canne à sucre. Elle est couramment utilisée comme alimentation animale ou comme source de biomasse pour la production d'éthanol, de glutamate et d'acide lactique. La mélasse contient également plusieurs composants phénoliques dérivés de la canne à sucre, ainsi que des quantités élevées de sucre et de minéraux (**Meghana and Shastri, 2020 ; Formann et al., 2020**).

La mélasse de canne à sucre est principalement composée de saccharose, d'eau, de minéraux tels que le calcium, le fer, le potassium, le magnésium et le manganèse, ainsi que d'antioxydants tels que les polyphénols. Cependant, en raison de sa teneur élevée en sucre, il est recommandé de consommer la mélasse avec modération, surtout pour les personnes atteintes de diabète ou ayant des restrictions alimentaires liées au sucre. (**Meghana and Shastri, 2020 ; Formann et al., 2020**)

1.2 Utilisations

La mélasse est utilisée dans les secteurs industriels (**Gopal and Kammen, 2009**), alimentaires (**Mordenti et al., 2021**) et pharmaceutiques (**Jamir et al., 2021**) pour la synthèse de divers produits d'intérêt. On peut citer :

- Alcool.
- Culture de levures.
- Aliments de bétails.
- Arômes.
- Produits Pharmaceutiques (gel hydroalcoolique).

2 Le bioéthanol

2.1 Définition

Le bioéthanol est produit par la bioconversion fermentaire du sucre par des microorganismes, principalement des levures (**Balat, 2011**).

L'utilisation du bioéthanol comme carburant présente plusieurs avantages notables par rapport à l'essence. Tout d'abord, le bioéthanol est moins toxique que l'essence et sa combustion génère une plus grande quantité d'autres gaz. En outre, il peut servir d'oxygénateur pour l'essence, réduisant ainsi les émissions polluantes. Enfin, sa température d'inflammation est plus élevée que celle de l'essence, ce qui le rend plus sûr à utiliser. L'éthanol produit à partir de la fermentation de sucres contenus dans les végétaux est un biocarburant prometteur pour remplacer l'essence en raison de son grand potentiel (**Basso et al., 2011**).

Il est possible de classifier les matières premières végétales alcooligènes en trois catégories en raison de leur grande diversité :

- les plantes saccharifères comme la betterave et canne à sucre.
- les plantes amylacées comme les céréales.
- les dérivés des plantes lignocellulosique comme le bois, la paille mais aussi les déchets de l'industrie papetière.

Le bioéthanol produit à partir des deux premières filières est considéré comme étant de première génération, car les techniques de production ont été largement maîtrisées. La biomasse lignocellulosique, qui est l'une des principales sources renouvelables disponibles sur la planète, est une option importante pour la production de bioéthanol de deuxième génération (**Humbird et al., 2011**).

Le bioéthanol peut notamment être subdivisé en trois générations :

- 1. Première génération :** Elle est produite à partir de matières premières alimentaires telles que le maïs, la canne à sucre et le blé. Ce processus de production est bien établi et utilisé à grande échelle dans de nombreux pays. Cependant, l'utilisation de cultures alimentaires pour la production de biocarburants a soulevé des préoccupations quant à la sécurité alimentaire et à la compétition avec les cultures destinées à l'alimentation humaine (**Ta-**

herzadeh, 2007 ; Zyaykina, 2017).

2. **Deuxième génération** : Elle est produite à partir de matières premières non alimentaires, telles que les résidus agricoles, les déchets forestiers et les cultures énergétiques spécifiques, comme le miscanthus et le panic érigé. Ces matières premières lignocellulosiques nécessitent des technologies de conversion plus avancées, telles que la prétraitement, la saccharification enzymatique et la fermentation (Zhang and Lynd, 2004 ; Sarkar et al., 2012)
3. **Troisième génération** : Elle est en cours de développement et implique l'utilisation de microorganismes génétiquement modifiés pour produire du bioéthanol à partir de matières premières non alimentaires telles que les algues. Les algues présentent un potentiel élevé en raison de leur croissance rapide et de leur teneur élevée en huiles et en sucres (Chisti, 2007 ; Pienkos and Darzins, 2009).

2.2 Utilisations

La fermentation du sucres ou de la mélasse, suivie d'une distillation, produit de l'alcool (bioéthanol) ainsi qu'un résidu riche en azote appelé vinasse, qui est généralement utilisé pour l'alimentation du bétail ou la fertilisation des sols.

Le bioéthanol est employé non seulement comme biocarburant dans des moteurs fonctionnant à l'essence, mais il sert également de base pour la fabrication d'un additif sans plomb pour l'essence. À long terme, il pourrait constituer une source d'énergie pour les piles à combustible. L'alcool est couramment utilisé dans l'industrie alimentaire, les boissons, les produits d'hygiène et pharmaceutiques, les détergents, les revêtements, les encres, les peintures, les adhésifs et pour la production d'autres produits chimiques. Il est également un solvant chimique qui trouve de multiples applications.

Il permet en outre de synthétiser indirectement des acétates tels que l'acétate d'éthyle, de butyle, d'octyle (plastifiant) et d'éthylène glycol pour l'enrobage et comme solvant de peintures, l'acétate cellulosique pour les fils textiles et les filtres de cigarettes, et l'acétate de polyvinyle pour les treillis et la résine Elvers et al. (1991).

3 *Saccharomyces cerevisiae*

Les levures sont des champignons unicellulaires dont la forme varie entre sphérique et cylindrique, avec des apicules et des tailles ne dépassant pas 6 à 8 millièmes de millimètre. Ces champignons présentent des ascospores dans des asques à paroi lisse, avec une quantité de 1 à 4 par asque. Au microscope électronique, les levures révèlent une paroi cellulaire, une membrane cytoplasmique, un cytoplasme, un noyau, des vacuoles, des ribosomes et des mitochondries (fig. 1), (Walker, 1998 ; Feldmann, 2011).

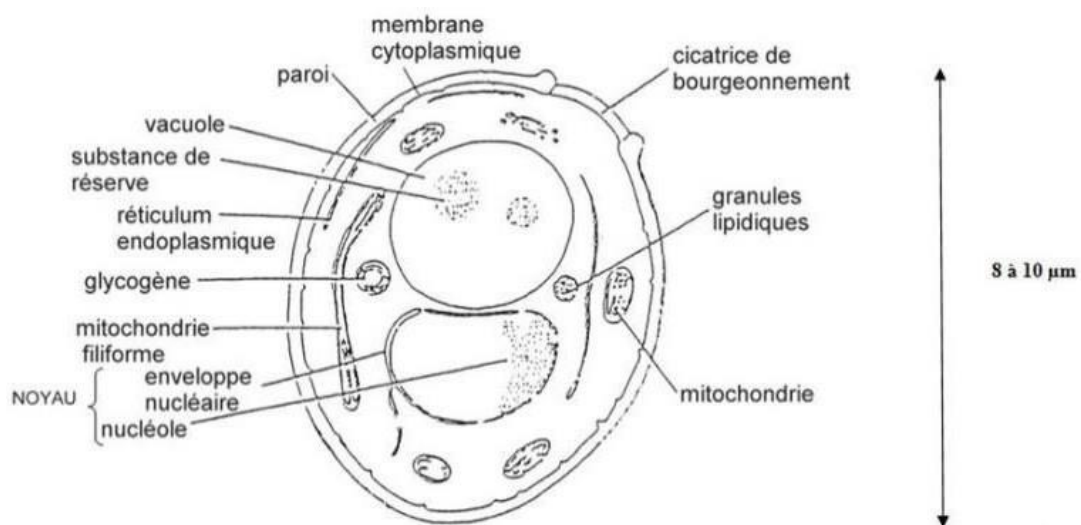


Figure 1 – *Sacharomyces cerevisiae* (Chebli, 2016)

Le genre *Saccharomyces* regroupe la plupart des levures utiles, notamment la levure de boulangerie et la levure de bière. L'espèce la plus couramment utilisée par l'homme est *Saccharomyces cerevisiae*, qui est capable de réaliser la fermentation alcoolique, produisant ainsi de l'alcool éthylique et du gaz carbonique en tant que produits finaux (Alberts et al., 2002).

3.1 Taxonomie

La place de la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* dans la classification :

- (a) **Règne** : champignons
- (b) **Embranchement** : fungi
- (c) **Sous embranchement** : Eumycètes
- (d) **Classe** : Ascomycètes
- (e) **Sous Classe** : Héli-ascomycètes

- (f) **Ordre** : Endomycétales
- (g) **Famille** : saccharomycetaceae
- (h) **Sous famille** : saccharomycetoideae
- (i) **Genre** : Saccharomyces
- (j) **Espèce** : *Saccharomyces cerevisiae*

(Kurtzman et al., 2011)

3.2 Nutrition et les conditions de culture

Les levures sont des organismes hétérotrophes dont la croissance dépend de la présence de composés organiques. Ces composés fournissent à la fois l'énergie nécessaire à leur métabolisme et du carbone assimilable sous forme de sucres. En plus de cela, les levures ont également besoin d'une source d'azote, de sels minéraux et de vitamines pour se développer (Larpent, 1991).

3.2.1 Source de carbone

Il a été rapporté que *Saccharomyces cerevisiae* est une espèce hétérotrophe qui nécessite une source de carbone pour sa croissance comme le sucre, qui agit également comme sa source d'énergie. (Verduyn et al., 1992).

3.2.2 Azote

L'azote peut être introduit dans un système biologique en utilisant des composés tels que l'urée, le sulfate d'ammonium ou le dihydrogénophosphate d'ammonium (Smith, 2010). L'azote joue un rôle essentiel dans la synthèse de molécules simples et de macromolécules nécessaires au bon fonctionnement des cellules (Jones, 2015). Bien que la plupart des levures soient capables d'utiliser des sources d'azote minéral simple, elles peuvent également métaboliser différents composés organiques tels que les acides aminés et les peptides (Johnson, 2018).

3.2.3 Sels et Minéraux

Les levures ont besoin de sels minéraux tels que le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le cuivre et le manganèse pour leur croissance et leur multiplication. La carence en ces éléments peut avoir des conséquences négatives sur la fermentation. Cependant, à l'exception du phosphore, ces minéraux sont généralement présents en quantité suffisante dans divers milieux carbonés comme la mélasse (Bakker and Clarke, 2011).

3.3 Avantages de la souche en industrie

La souche utilisée en industrie présente plusieurs avantages significatifs. Tout d'abord, elle doit être capable de tolérer de fortes concentrations d'éthanol, pouvant atteindre 10 à 12% en volume. De plus, elle supporte des niveaux élevés de sucres, ce qui est bénéfique dans le processus de production. La souche est également résistante aux pressions osmotiques élevées, ce qui contribue à sa stabilité. En parlant de stabilité, elle a fait ses preuves à l'échelle industrielle, démontrant ainsi sa fiabilité et sa capacité à être utilisée de manière efficace et constante. De plus, la récupération des souches est aisée grâce à des méthodes telles que la centrifugation ou la filtration, permettant leur recyclage. Enfin, la souche est capable de fermenter les sucres dans des conditions de pH acide, ce qui réduit le risque de contaminations microbiennes et accélère le processus de fermentation en seulement 3 à 4 heures (**Larpen, 1991**).

3.4 Fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique implique un processus complexe impliquant des phénomènes physiques, biochimiques et biologiques, qui conduit à la conversion des jus de fruits ou de solutions sucrées en vin. Ce processus est rendu possible par l'action des levures, en particulier *Saccharomyces cerevisiae*, qui transforment les sucres contenus dans le moût, tels que le glucose et le fructose, en éthanol et en dioxyde de carbone. Dans le cas d'une fermentation alcoolique en batch, environ 30 à 35 % de la source de carbone est convertie en biomasse cellulaire, tandis que 50% des glucides sont transformés en éthanol. Les sucres restants sont utilisés pour produire de l'énergie et entretenir les cellules. la fermentation alcoolique peut être divisée en deux étapes distinctes. La première étape est caractérisée par la croissance de la biomasse, simultanément à la production d'éthanol (**Margaritis and Merchant, 1990**).

3.5 Paramètres de fermentation

3.5.1 Composition du milieu

La cellule de levure nécessite plus qu'une simple source de carbone pour fonctionner correctement. En plus de la source de carbone, la cellule a également besoin d'une source d'azote, de phosphore et de soufre sous forme de sels minéraux, ainsi que de vitamines. Ces éléments sont nécessaires pour que la cellule puisse synthétiser ses composés, maintenir le fonctionnement de

ses enzymes et influencer la productivité de la levure (Eide et al., 2005 ; Walker and Stewart, 2016).

3.5.2 L'éthanol

La principale considération lors de la sélection des souches de levures performantes est leur aptitude à résister à des niveaux élevés d'éthanol. En effet, l'éthanol peut potentiellement limiter la croissance et la capacité de fermentation des micro-organismes, et constitue ainsi le principal facteur limitant de la fermentation alcoolique en raison de son effet inhibiteur sur les processus métaboliques des micro-organismes (Pretorius, 2000).

3.5.3 Température

La plage de température idéale pour la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* se situe entre 30 et 33°C. Il a été observé que l'augmentation de la température jusqu'à cette plage optimale peut réduire le temps de fermentation (Varela and Borneman, 2017).

3.5.4 Oxygène

La présence d'une légère aération dans un milieu de culture favorise le développement des micro-organismes et augmente la résistance des souches d'éthanol aux conditions de stress. Cette même aération a également été associée à une augmentation du rendement de conversion des sucres en éthanol (Caspeta et al., 2014).

3.5.5 Pression osmotique

Lorsque les concentrations de sucres dans le milieu de culture sont élevées, cela peut induire un stress osmotique sur les levures en phase de croissance Boer et al. (2010).

3.5.6 Acidité

On observe une diminution de la vitesse de croissance des levures à mesure que l'acidité augmente. Cette diminution devient nulle lorsque la concentration en équivalent acide sulfurique atteint 5 g/L. La mesure de l'acidité est un paramètre important à prendre en compte en complément du pH, et son niveau dépend du moût utilisé. Pour obtenir un développement optimal de la levure tout en maintenant un effet bactériostatique, il est recommandé de viser une acidité comprise entre 1,5 et 2,5 g/L (Narendranath and Power, 2005).

3.5.7 L'inoculum

La quantité d'inoculum utilisée lors de la fermentation a un rôle crucial dans sa durée, contribuant ainsi à réduire le stress induit par l'éthanol en limitant le temps d'exposition. Des quantités importantes d'inoculum, d'environ 20 g/L, peuvent réduire le temps de latence et le temps total de fermentation jusqu'à 80%, tout en augmentant la résistance des levures à l'éthanol et à la pression osmotique, ainsi que le maintien d'une viabilité cellulaire élevée tout au long de la fermentation (Strehaiano et al., 1983 ; Kundiyana et al., 2010 ; Yan et al., 2013).

3.6 Métabolisme de synthèse éthanolique

La conversion du glucose en éthanol est réalisée par des enzymes en absence d'oxygène selon la réaction illustrée dans la **fig. 2**.

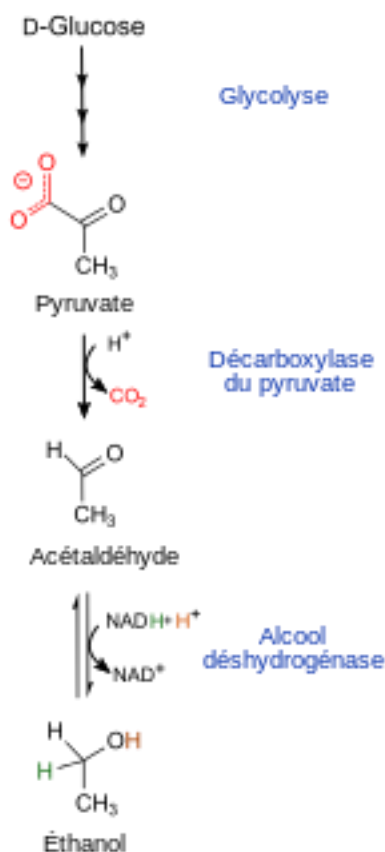


Figure 2 – Réaction de synthèse de l'éthanol
[(Racker, 1974)]

On en déduit que 100 g de glucose permettent théoriquement de produire 51,1 g d'éthanol et 48,9 d'oxyde de carbone .en pratique, on obtient 47,2 g d'éthanol, équivalent à 59,1 mL d'éthanol à 100°C ou 62,44 mL d'éthanol à 95°C (éthanol hydraté).

La production de bioéthanol à partir de monosaccharides ou de disaccharides est considérée comme la méthode la plus simple pour obtenir du bioéthanol. Cependant, les levures ont la capacité d'utiliser les polysaccharides comme source de carbone à condition qu'elles possèdent les hydrolases nécessaires pour dépolymériser ces composés. La glycolyse est la première étape importante de la fermentation alcoolique des levures (Gibson and Liti, 2015).

Il a été démontré que la levure *Saccharomyces cerevisiae* possède la capacité d'hydrolyser le saccharose, un disaccharide, et de libérer les deux sucres simples dont il est composé, à savoir le glucose et le fructose.

3.6.1 Glycolyse

La glycolyse est une voie métabolique fondamentale qui se produit dans le cytoplasme des cellules et qui permet la dégradation du glucose en pyruvate. Ce processus se déroule en plusieurs étapes, chacune catalysée par des enzymes spécifiques (fig. 3).

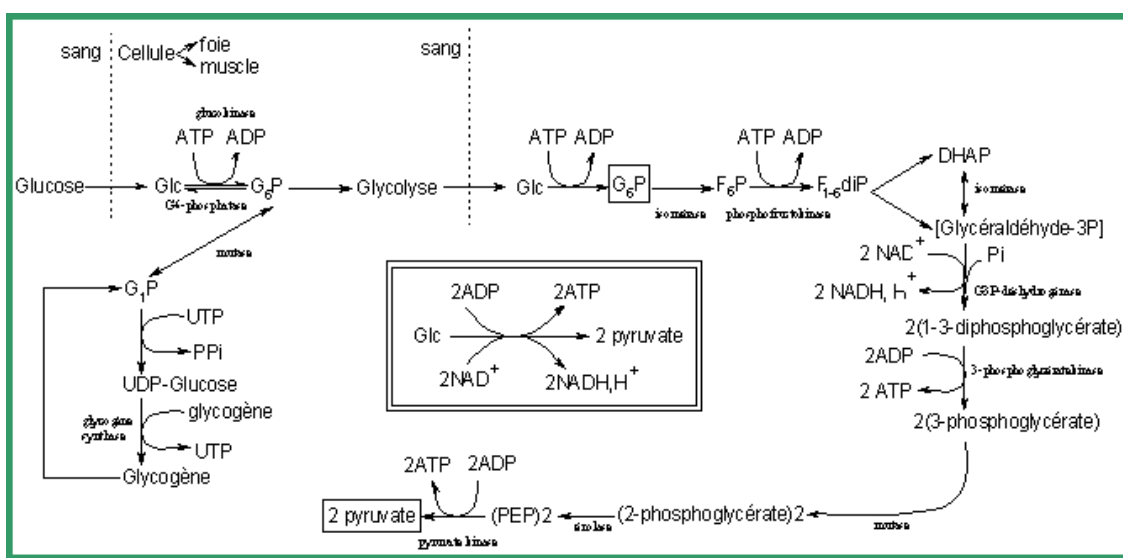


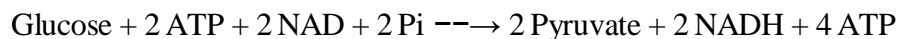
Figure 3 – schéma global de la glycolyse [(Anton et al., 2018)]

Au cours de la glycolyse, une molécule de glucose à six carbones est convertie en deux molécules de pyruvate à trois carbones. Ce processus implique des réactions de phosphorylation, d'isomérisation et de décarboxylation. La première étape est la phosphorylation du glucose, qui est catalysée par l'enzyme hexokinase et nécessite l'apport d'une molécule d'ATP. Le glucose-6-phosphate ainsi formé subit ensuite une série de réactions chimiques pour produire du pyruvate.

La glycolyse est un processus anaérobie, ce qui signifie qu'elle peut se dérouler en l'absence d'oxygène. Cependant, en présence d'oxygène, le pyruvate peut entrer dans le cycle de Krebs et être oxydé pour produire de l'ATP supplémentaire lors de la respiration cellulaire.

La glycolyse est régulée par différents mécanismes de contrôle, notamment l'inhibition compétitive par les produits finaux de la voie, tels que l'ATP et le pyruvate. Des régulateurs allostériques, tels que le fructose-2,6-bisphosphate, jouent également un rôle clé dans la régulation de la glycolyse.

La glycolyse est une voie métabolique essentielle dans de nombreux types de cellules, car elle fournit de l'énergie sous forme d'ATP et des précurseurs métaboliques pour d'autres voies métaboliques. Elle est également impliquée dans la régulation de la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire et d'autres processus cellulaires (**Berg, 2007**).



3.6.2 Réactions de transformation du pyruvate en éthanol

Lors de la fermentation alcoolique, l'acide pyruvique est décarboxylé en CO₂ et acétaldéhyde par l'enzyme pyruvate décarboxylase. Dans une deuxième étape, l'acétaldéhyde est réduit en éthanol grâce à l'alcool déshydrogénase, ce qui permet la réoxydation du NADH (**Liang et al., 2011**).

3.7 Avantages et inconvénients du bioéthanol comme carburant

Le bioéthanol est un carburant renouvelable produit à partir de matières premières telles que la canne à sucre, le maïs et autres céréales. L'utilisation de bioéthanol en tant que carburant a suscité un débat passionné sur ses avantages et ses inconvénients. Voici quelques avantages et inconvénients de l'utilisation de bioéthanol comme carburant.

3.8 Avantages

1. Ressource renouvelable : La mélasse de canne à sucre est un sous-produit de l'industrie sucrière et sa production est liée à la culture de la canne à sucre, qui est une culture renouvelable. Par conséquent, son utilisation pour la production de bioéthanol permet de tirer parti d'une ressource renouvelable plutôt que de dépendre des combustibles fossiles non renouvelables.

2. Réduction des émissions de gaz à effet de serre : Le bioéthanol produit à partir de mélasse de canne à sucre peut présenter des émissions de gaz à effet de serre réduites par rapport aux carburants fossiles. Selon les études, l'utilisation de bioéthanol peut contribuer à réduire les émissions de CO₂ et à atténuer les impacts du changement climatique (**Chen, 2016**).
3. Valorisation d'un sous-produit : La production de sucre à partir de la canne à sucre génère de la mélasse en tant que sous-produit. L'utilisation de cette mélasse pour la production de bioéthanol permet de valoriser un sous-produit qui autrement pourrait être considéré comme un déchet. Cela contribue à une utilisation plus efficace des ressources agricoles (**Sgarbieri, 2014**).
4. Effets économiques et développement rural : La production de bioéthanol à partir de mélasse de canne à sucre peut créer des opportunités économiques et contribuer au développement rural. Elle peut générer des revenus supplémentaires pour les agriculteurs et les industries sucrières, tout en favorisant la création d'emplois dans les régions productrices de canne à sucre (**Gheewala, 2008**).

Ces avantages sont basés sur des considérations générales et peuvent varier en fonction des contextes spécifiques et des pratiques de production mises en œuvre (**Chen, 2016**).

3.9 Inconvénients

1. Concurrence avec la production alimentaire : La production de bioéthanol peut entraîner une concurrence avec la production alimentaire. Selon une étude réalisée par le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE), la production de bioéthanol peut avoir un impact négatif sur la sécurité alimentaire (**Demirbas, 2008**).
2. Coût élevé : Le coût de production de bioéthanol est actuellement plus élevé que celui de l'essence. Les consommateurs peuvent être réticents à payer un prix plus élevé pour le bioéthanol.
3. Impacts environnementaux de la production de bioéthanol : La production de bioéthanol peut avoir des impacts environnementaux négatifs tels que la déforestation, la pollution de l'eau et la perte de biodiversité.

3.10 Procédure de production

La production de bioéthanol à partir de matières premières telles que le maïs, la canne à sucre ou la betterave à sucre suit un schéma procédural bien défini (**fig. 4**). Tout d'abord, les matières premières sont broyées pour obtenir une pâte. Ensuite, cette pâte subit un traitement thermique afin de décomposer l'amidon en sucres simples, notamment le glucose. Les sucres obtenus sont ensuite fermentés par des levures, donnant ainsi naissance à de l'éthanol. Pour séparer l'éthanol de l'eau et des impuretés, une distillation est effectuée. Enfin, l'éthanol est déshydraté pour atteindre un niveau élevé de pureté (**Arimi et al., 2014**).

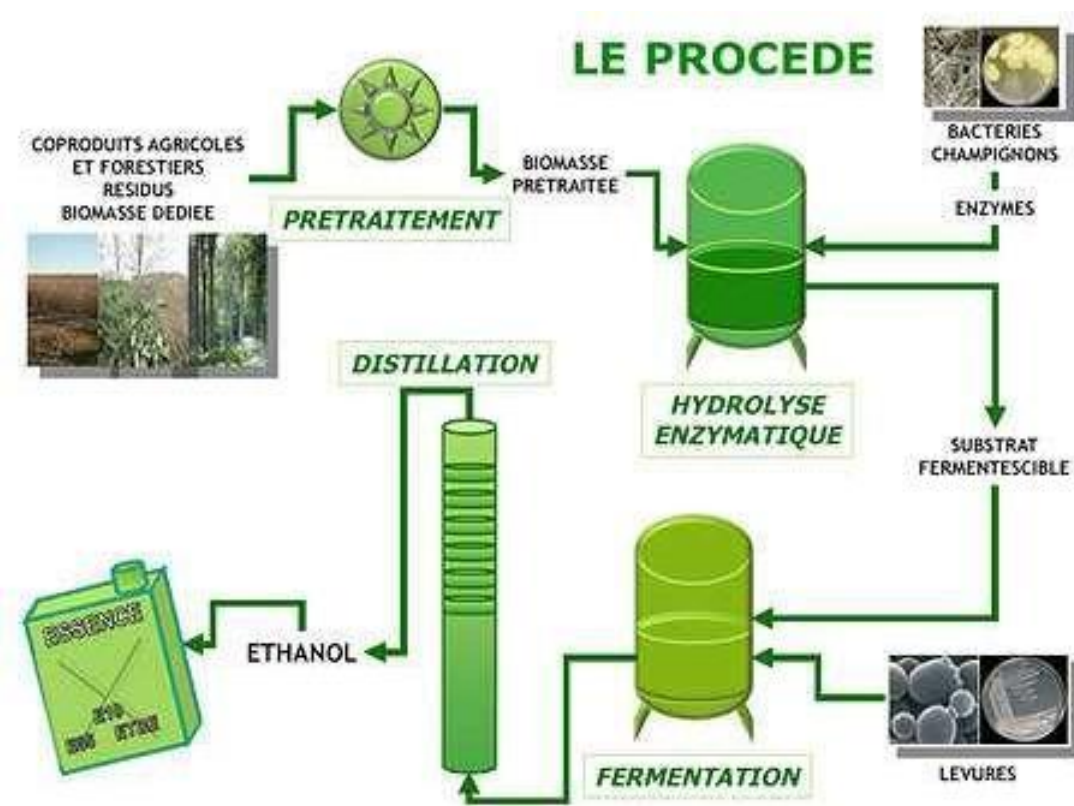


Figure 4 – Schéma globale de la procédure de production de bioéthanol [(Fennouche, 2017)]

3.11 Hydrodistillation

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau, également connue sous le nom d'hydrodistillation (**fig. 5**), est une méthode d'extraction de composés volatils à partir de matières premières végétales. Cette méthode est largement utilisée dans l'industrie pour extraire des huiles essentielles, des arômes et des parfums à partir de plantes. Cependant, cette technique peut

également être utilisée pour récupérer des produits à partir de matières premières telles que la mélasse pour la production de bioéthanol. L'hydrodistillation est une méthode alternative à la distillation traditionnelle pour la récupération de la mélasse. Cette méthode consiste à chauffer de l'eau dans un appareil de distillation, puis à placer la mélasse dans un compartiment séparé. La vapeur d'eau est ensuite dirigée à travers la mélasse, entraînant les composants volatils avec elle. Les composants volatils sont ensuite condensés dans un condenseur et collectés sous forme liquide. (Banerjee R, 2018).

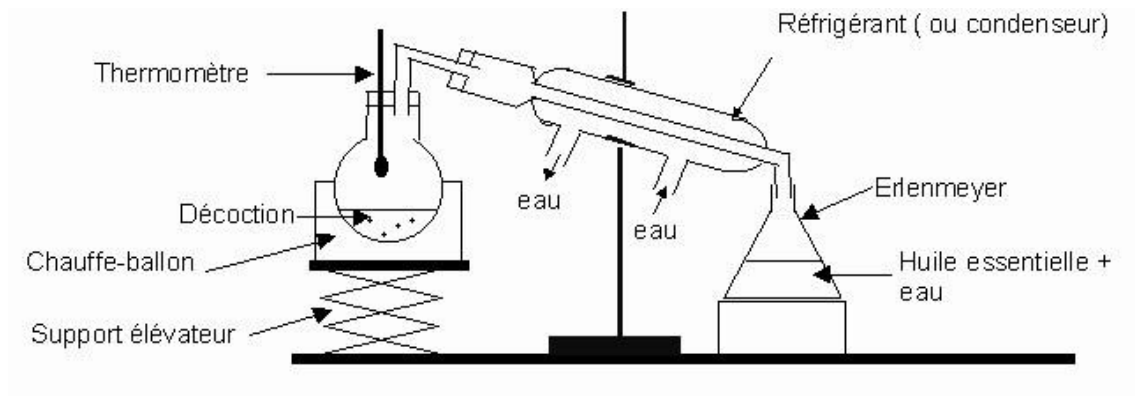


Figure 5 – Schéma représentatif du processus d'hydrodistillation [(Théo, 2014)]

Partie Expérimentale

II | Matériel et méthodes

1 Matériel biologique

La souche *Saccharomyces cerevisiae* utilisée dans ce travail pratique est une levure de bière qui a été fournie sous forme lyophilisée par l'entreprise de B.S.A (brasserie star d'Algérie, El-kseur).

La mélasse est un sous-produit obtenu lors de l'extraction du sucre à partir du jus de canne à sucre dans la raffinerie de sucre de Cevital.

2 Analyse physico-chimique de la mélasse pure de «CEVITAL»

Ensemble de ces analyses est effectué au niveau de laboratoire d'analyse physico-chimique de raffinerie du sucre de «CEVITAL».

2.1 Brix

(a) **Principe :** Le Brix fait référence à la mesure de la concentration de sucre dans une solution à l'aide d'un réfractomètre. Cette mesure est exprimée en degrés Brix (°Brix). Le principe de Brix est basé sur la réfraction de la lumière à travers une solution sucrée, qui dépend de la concentration de sucre dans la solution. Plus la concentration de sucre est élevée, plus la réfraction de la lumière est importante. Le degré Brix est donc une mesure indirecte de la concentration de sucre dans une solution. Cette mesure est couramment utilisée dans l'industrie alimentaire pour mesurer la teneur en sucre des jus de fruits, des sirops, des confitures, des vins et autres produits sucrés (JHA and MATSUOKA, 2000).

(b) **Mode opératoire :**

L'échantillon de mélasse a été dilué dix fois avant d'être versé dans un réfractomètre thermostaté à 20°C. Ensuite, la valeur obtenue a été lue.

La mesure de brix se fait par la relation suivante :

$$\text{Brix \%} = \text{lecture au réfractomètre} \times \text{le facteur de dilution}$$

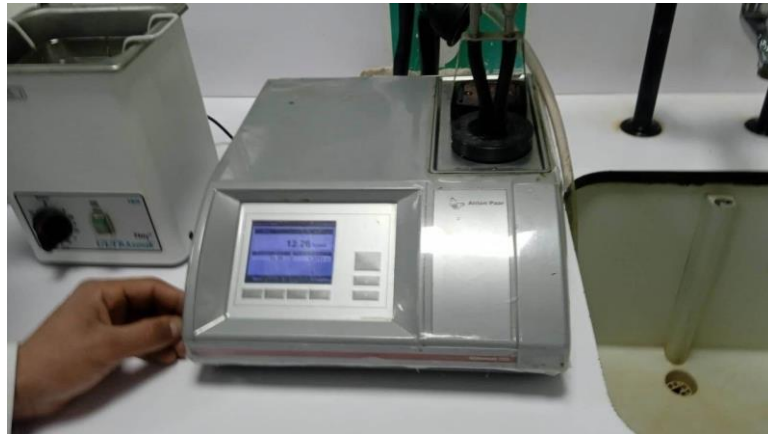


Figure 6 – Brixmètre

2.2 Polarisation

(a) **Principe** : La polarisation de la lumière est basé sur le fait que la lumière est une onde électromagnétique qui vibre dans toutes les directions perpendiculaires à la direction de propagation. La polarisation de la lumière se réfère à la direction de vibration de ces ondes électromagnétiques. Dans l'industrie du sucre, le polarimètre est utilisé pour mesurer la teneur en sucre dans les solutions sucrées. La mesure de la teneur en sucre est importante car elle affecte la qualité et la valeur du produit final, ainsi que son utilisation dans d'autres produits alimentaires. Le principe de base du polarimètre dans l'industrie du sucre est similaire à celui décrit précédemment. Lorsque la lumière polarisée traverse une solution sucrée, la polarisation de la lumière est modifiée en raison de l'interaction de la lumière avec les molécules de sucre dissoutes dans la solution. La quantité de modification de la polarisation est proportionnelle à la quantité de sucre dans la solution (Bahaa E. A. Saleh, 2019).

(b) **Mode opératoire** :

L'échantillon de mélasse a été dilué dix fois avant qu'une quantité de la solution soit versée dans un polarimètre. Ensuite, la valeur obtenue a été lue.

$$\text{Polarisation \%} = \text{lecture au polarimètre} \times \text{le facteur de dilution}$$



Figure 7 – Polarimètre

2.3 Pureté

Se calcule comme suit :

$$\text{La pureté \%} = \frac{\text{Polarisation}}{\text{Brix}} \times 100$$

En utilisant cette formule, la polarisation optique de la solution est divisée par la concentration de sucre en degrés Brix, puis le résultat est multiplié par 100 pour obtenir un pourcentage de pureté. De cette manière, une estimation de la proportion de sucre pur dans la solution sucrée peut être obtenue, en prenant en compte l'influence potentielle d'autres composants sur la polarisation optique (Honig, 1953).

3 Fermentation éthanolique de la mélasse

3.1 Mode opératoire

Pour préparer l'inoculum, il a été mesuré 1 gramme de levures *Saccharomyces cerevisiae*, 1 gramme de glucose et 10 mL d'eau minérale, qui ont ensuite été mélangés et incubés pendant 12 heures, puis une seconde fois pendant 30 minutes. Ensuite, l'inoculum a été ajouté à un bécher stérile contenant 50 grammes de mélasse et 450 mL d'eau minérale. Les béchers ont été agités à l'aide d'un agitateur magnétique pour favoriser la croissance des levures, puis ont été placés dans un bain-marie agitateur réglé à une température ambiante de 28°C. Les solutions ont été incubées pendant 7 jours à une température constante de 28°C pour permettre la croissance des levures (Gírio et al., 2010).

Remarques :

- Il est important de travailler de manière stérile pour éviter toute contamination de la solution.
- La quantité de levures choisie peut avoir un impact sur la vitesse et le rendement de la fermentation.

4 Dosage des sucres totaux par méthode d'anthrone

(a) **Principe :** Le dosage des sucres totaux par méthode d'anthrone consiste à réagir l'anthrone, un composé organique, avec les sucres présents dans l'échantillon pour former un complexe coloré. La quantité de complexe formé est ensuite mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre, qui permet de déterminer la concentration des sucres totaux dans l'échantillon. Cette méthode est couramment utilisée en biochimie pour mesurer la teneur en sucres dans des échantillons tels que des extraits de plantes ou des solutions de culture de cellules. Elle est considérée comme une méthode simple, rapide et fiable pour déterminer les sucres totaux dans une grande variété d'échantillons biologiques. La méthode d'anthrone nécessite une référence, généralement une solution de glucose, pour établir une courbe d'étalonnage et permettre la quantification des sucres totaux dans l'échantillon (Preston, 2007).

(b) **Mode opératoire :**

La solution d'anthrone a été préparée en dissolvant 2 g d'anthrone dans 100 mL d'acide sulfurique concentré, suivie de l'ajout de 1 mL de mélasse pure diluée à $1/10^4$ et 1 mL de mélasse après fermentation éthanolique diluée à $1/10^2$ dans des tubes à essai contenant 2 mL du réactif d'anthrone, qui ont ensuite été incubés dans un bain-marie à 100°C pendant 10 minutes, suivis de la mesure de l'absorbance de chaque échantillon à 625 nm après refroidissement des tubes, avec une courbe d'étalonnage préparée à partir d'une solution de glucose pur ayant des dilutions de 0.2 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.6 mg/mL, 0.8mg/mL, et le protocole a été répété pour un total de trois essais et tubes par échantillon.

5 Procédé de distillation

Après la fermentation, il est nécessaire d'effectuer une distillation pour extraire l'éthanol ou le bioéthanol à partir du moût fermenté. Dans le cadre de ce projet, l'hydrodistillation a été choisi. Le matériel utilisé comprend un ballon de 500 mL contenant 100 mL de moût fermenté, un coude de 90°C, un réfrigérant droit et un erlenmeyer pour la récupération du distillat. De plus, un chauffe-ballon réglé à 70°C est utilisé.

Remarque : Deux échantillons ont été spécialement préparé pour la distillation, avec une attention particulière accordée à leur préparation. La composition des échantillons a été rendu identique, en effectuant une inoculation de levures et de glucose pendant 30 minutes pour l'un d'eux, tandis que pour l'autre, cette inoculation a été prolongé pendant 12 heures avant d'être ajoutée au milieu de fermentation. La fermentation a été soigneusement mené pendant 7 jours, à une température de 28°C.

La pureté de l'éthanol dans un échantillon récupéré après la distillation peut être déterminée à l'aide de la mesure de densité réalisée à l'aide d'un densimètre, suivi du calcul de la densité de la solution.

Densité de l'éthanol = (Masse de l'éthanol / Volume de l'éthanol) / Densité de l'eau

6 Analyse de l'éthanol par spectroscopie infrarouge

(a) **Principe** : L'analyse par spectroscopie infrarouge est de mesurer l'absorption d'ondes électromagnétiques infrarouges par un échantillon, ce qui permet d'obtenir des informations sur la structure moléculaire de l'échantillon. Cette technique est basée sur le fait que les molécules absorbent de l'énergie dans des régions spécifiques du spectre infrarouge en raison des vibrations de liaison moléculaire qui génèrent des moments dipolaires variables. Les spectres infrarouges sont comparés à des spectres de référence pour identifier les groupes fonctionnels présents dans l'échantillon (**Griffiths and de Haseth, 2007**).

(b) **Mode opératoire** :

Une solution d'éthanol est préparée dans un solvant approprié, tel que l'eau, pour l'analyse par spectroscopie infrarouge. Une cellule à fenêtre en KBr transparente dans la région infrarouge est utilisée pour la mesure. Avant l'analyse, l'instrument est calibré avec un échantillon de référence d'éthanol de concentration connue pour une mesure précise, avec les conditions de mesure, telles que la résolution et le temps d'intégration, optimisées à ce stade. Ensuite, l'échantillon est placé dans la cellule de mesure et l'analyse est effectuée en utilisant les conditions optimisées, avec plusieurs mesures effectuées pour minimiser les erreurs et assurer la précision de la mesure. Les données spectrales obtenues sont analysées pour identifier les pics caractéristiques de l'éthanol dans la région infrarouge, tels que ceux à environ 1050 cm^{-1} pour la bande C-O et à environ 3300 cm^{-1} pour la bande O-H.

Remarque : Les conditions de mesure, telles que la résolution et le temps d'intégration, sont également optimisées à ce stade.

1. Ensuite, nous plaçons l'échantillon dans la cellule de mesure et effectuons l'analyse en utilisant les conditions optimisées.
2. Nous effectuons plusieurs mesures pour minimiser les erreurs et assurer la précision de la mesure.

7 Analyse statistique (Analyses en Composantes Principales (ACP))

L'ACP est une méthode statistique largement utilisée pour explorer et analyser la structure des données multidimensionnelles. Elle vise à réduire la dimensionnalité des données tout en préservant autant d'informations que possible. Le principe de l'ACP repose sur la construction de nouvelles variables, appelées composantes principales, qui sont des combinaisons linéaires des variables d'origine. Ces composantes principales sont ordonnées de telle sorte que la première capture le maximum de variance dans les données, la deuxième capture le maximum de variance restante, et ainsi de suite.

L'ACP permet de visualiser graphiquement les relations entre les observations et les variables, en réduisant le nombre de dimensions du problème. Elle est souvent utilisée pour simplifier la compréhension des données complexes et pour détecter des motifs ou des structures cachées (Jolliffe, 2002).

Une ACP est un outil très puissant pour résumer les informations, et c'est agréable à avoir. De grandes quantités de données quantitatives qui doivent être traitées et interprétées. Son but principal est d'analyser les relations entre les variables et d'identifier les différents états plus forts que les autres (Guerrien, 2003). Notre étude, repose sur une ACP réalisée avec le logiciel XLSTAT, qui porte sur l'analyse de deux paramètres sur un ensemble d'échantillons.

III | Résultat et discussion

1 Analyses physico-chimiques

Tableau I – Résultats des analyses physico-chimiques de la mélasse.

Lots	Brix%	Pol%	Pureté%	pH
230309T603	59.10	58.86	99.59	7.73
	58.35	58.12	99.61	8.94
230310T603	58.75	58.36	99.34	8.65
	58.35	57.90	99.23	8.53
230312T603	59.40	58.85	99.07	8.25
	59.20	58.77	99.27	8.18
230320T601	59.60	59.16	99.26	7.85
	59.70	59.23	99.21	7.92
230321T601	58.70	58.43	99.54	8.85
	59.05	58.49	99.05	8.34
230323T601	59.10	58.60	99.15	8.11
	60.10	59.67	99.28	7.70

On a observé que la récupération de la mélasse dans la section de cristallisation se produira systématiquement à chaque diminution du pourcentage de brix, avec une moyenne de 59%.

Les résultats d’analyse de la mélasse révèlent une relation étroite et significative entre le Brix, la Polarisation et la Pureté. Les valeurs moyennes de 59% pour le Brix et la Polarisation, ainsi que la pureté de 99%, témoignent de l’interdépendance de ces paramètres et confirment la bonne qualité de la mélasse. Un Brix élevé est associé à une concentration élevée de solides solubles, ce qui indique généralement une teneur en sucre élevée dans la mélasse. De même, une Polarisation élevée reflète une quantité significative de saccharose dans la mélasse. La pureté de 99% souligne que la mélasse est extrêmement pure, avec une proportion élevée de saccharose par rapport aux impuretés. Ces résultats sont cohérentes avec les résultats de l’auteure (**Gopal and Kammen, 2009**), suggèrent que la mélasse pourrait trouver une utilisation précieuse dans diverses industries, où une teneur en sucre élevée et une pureté supérieure sont recherchées pour des produits finis de qualité.

2 Identification et calcul de la densité, concentration et pureté de bioéthanol obtenu

L'estimation de la pureté de l'éthanol en fonction de la densité de la solution peut être facilitée par l'utilisation d'un tableau de concentration gravimétrique spécifique (voir annexe 6).

Tableau II – Mesures de densité et pureté du bioéthanol

Échantillons	Densité	Concentration gravimétrique spécifique températures 30° C	Pureté du bioéthanol (%)
Échantillon après 30 minutes	0.86859	0.86863	66%
Échantillon après 12 heures	0.82264	0.82264	85%

Lors de l'analyse de la densité des échantillons, il a été observé que l'échantillon prélevé après 30 minutes présentait une densité de 0.86859, avec une pureté de l'éthanol de 66%. En revanche, l'échantillon prélevé après 12 heures avait une densité de 0.82264, avec une pureté de l'éthanol de 85%. Cette différence de pureté peut être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, le temps d'incubation des levures avant la fermentation peut jouer un rôle important. Les levures nécessitent un certain temps pour métaboliser les substances indésirables présentes dans le substrat, ce qui peut influencer la pureté finale de l'éthanol produit. Des études antérieures ont montré que la composition chimique des substrats peut affecter la cinétique de fermentation et donc la pureté de l'éthanol (Zhang and Lynd, 2004).

De plus, la quantité de substrat fermenté peut varier entre les deux précultures. Si la quantité de substrat disponible est insuffisante, la fermentation peut être incomplète, entraînant une plus grande présence d'impuretés dans l'éthanol final. Par conséquent, une fermentation plus longue, comme celle observée après 12 heures, peut permettre une meilleure conversion des sucres en éthanol et une élimination plus efficace des impuretés (Kundiyanana et al., 2010).

3 Dénombrement des levures à l'aide de la chambre de Malassez

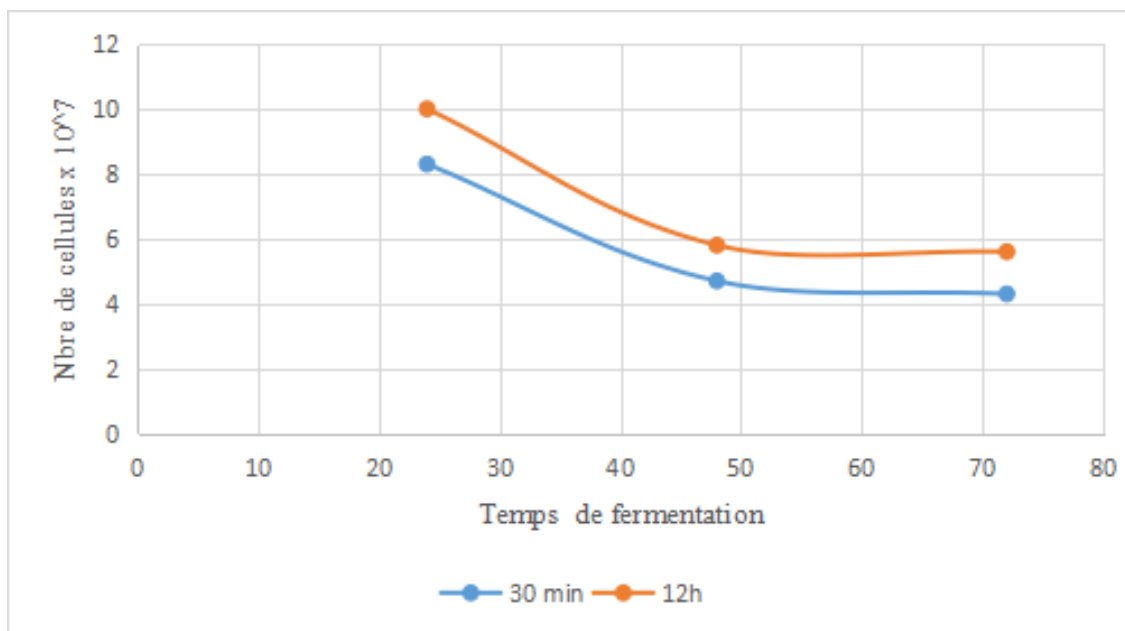


Figure 8 – Évolution temporelle du nombre de levures lors de la fermentation mesurée avec la méthode de la chambre de comptage de Malassez.

Au cours de la fermentation, on observe une diminution progressive du nombre de cellules de levures de bière. Pour étudier ce phénomène, des mesures ont été prises à trois moments différents sur une période de 48 heures, s'étendant de 24 à 72 heures. Les résultats, comme indiqués dans la **fig. 8**, démontrent une diminution de la quantité de levures *Saccharomyces cerevisiae* dans les échantillons. Par exemple, l'échantillon prélevé à 30 minutes a montré une réduction de 8×10^7 à 4×10^7 cellules, tandis que l'échantillon prélevé à 12 heures a présenté une diminution de 10×10^7 à 6×10^7 cellules. Ces observations sont en accord avec les résultats rapportés par **Garcia-Martinez. (2018)**.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette diminution du nombre de cellules de levures. Tout d'abord, il est possible que les sources de nutriments essentiels nécessaires à la croissance des levures s'épuisent progressivement au cours de la fermentation. De plus, l'accumulation de métabolites toxiques ou d'éthanol générés pendant la fermentation peut également contribuer à cette diminution. Enfin, il est envisageable qu'une compétition se produise entre les différentes souches de levures présentes dans le milieu de fermentation, ce qui entraîne une diminution de

la population des levures dominantes.

4 Croissance des levures lors de la fermentation

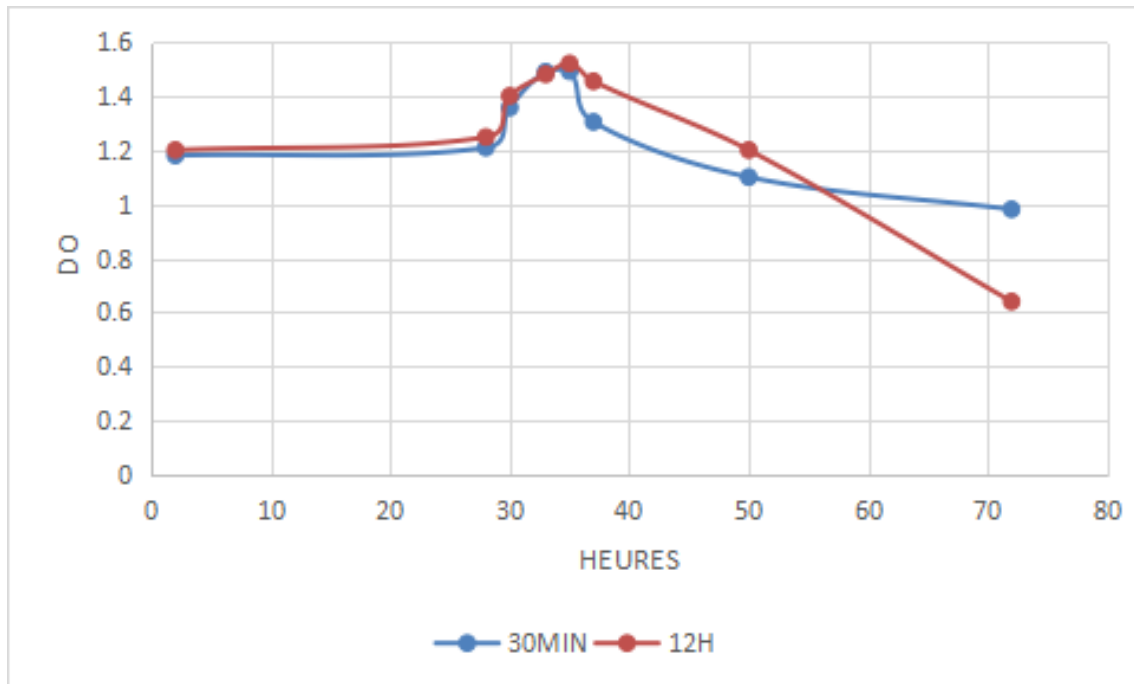


Figure 9 – courbe de croissance des levures *Saccharomyces cerevisiae* lors la fermentation en fonction du temps.

On peut observer différentes phases de croissance des levures au cours de la fermentation alcoolique. Au départ, jusqu'à environ 28 heures de fermentation, la croissance des levures est relativement lente, ce qui correspond à la phase de latence. Cette phase est caractérisée par une adaptation des levures aux conditions environnementales et une préparation pour la croissance active (Walker, 1998).

Entre 28 et 35 heures, on observe une augmentation significative de la densité optique (DO) atteignant 1,52 pour la pré-culture de 12 heures et 1,491 pour la pré-culture de 30 minutes. Cette période correspond à la phase exponentielle de croissance des levures, caractérisée par une multiplication cellulaire active et une consommation accrue des sucres disponibles dans le milieu de fermentation. Les levures utilisent ces sucres comme source d'énergie pour métaboliser et produire de l'alcool (Bisson and Butzke, 2000).

Par la suite, on remarque une diminution de la densité des levures. Dans le cas de la pré-culture de 12 heures, la densité optique chute à 1,454 à l'heure 37, et atteint 0,064 à l'heure 72. Pour la pré-culture de 30 minutes, la densité optique diminue à 1,304 à l'heure 37, et atteint 0,981 à l'heure 72. Cette phase correspond à la phase de déclin de la croissance des levures. Les levures ont épuisé une grande partie des sucres disponibles et les conditions de fermentation deviennent moins favorables à leur croissance. à mesure que la fermentation progresse, l'alcool lui-même peut devenir toxique pour les levures, ce qui entraîne une diminution de leur viabilité et une baisse de la densité optique. Cela marque le début de la phase de déclin où la croissance des levures ralentit et peut éventuellement cesser complètement (Flickinger,2006).

Ces observations sont cohérentes avec les différentes phases de croissance des levures pendant la fermentation alcoolique. Au départ, les levures sont en phase de latence, suivie par une phase exponentielle de croissance, puis une phase de déclin. Ces phases sont influencées par des facteurs tels que la disponibilité des nutriments, la concentration en sucre, la température et le pH (Swain et al., 2007).

4.1 Analyse de l'évolution de la teneur en sucre en fonction de temps

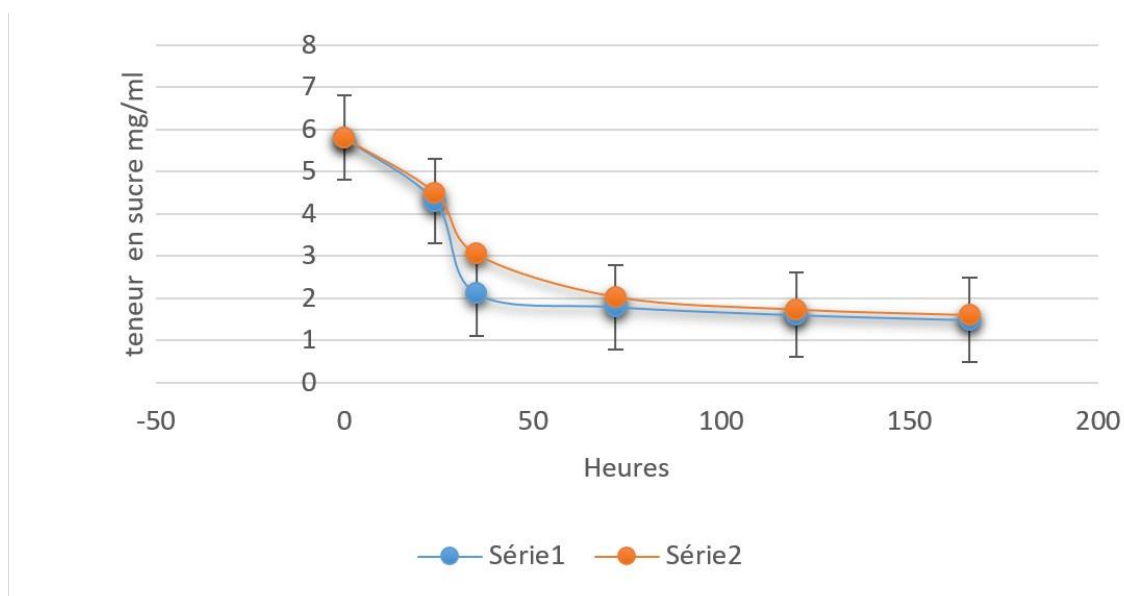


Figure 10 – Teneur en sucre en fonction de temps

En utilisant la courbe d'étalonnage du glucose de concentration pure de 2 g/ml (voir annexe 20), la teneur en sucre a été mesurée en fonction du temps. Dans l'objectif d'effectuer une analyse

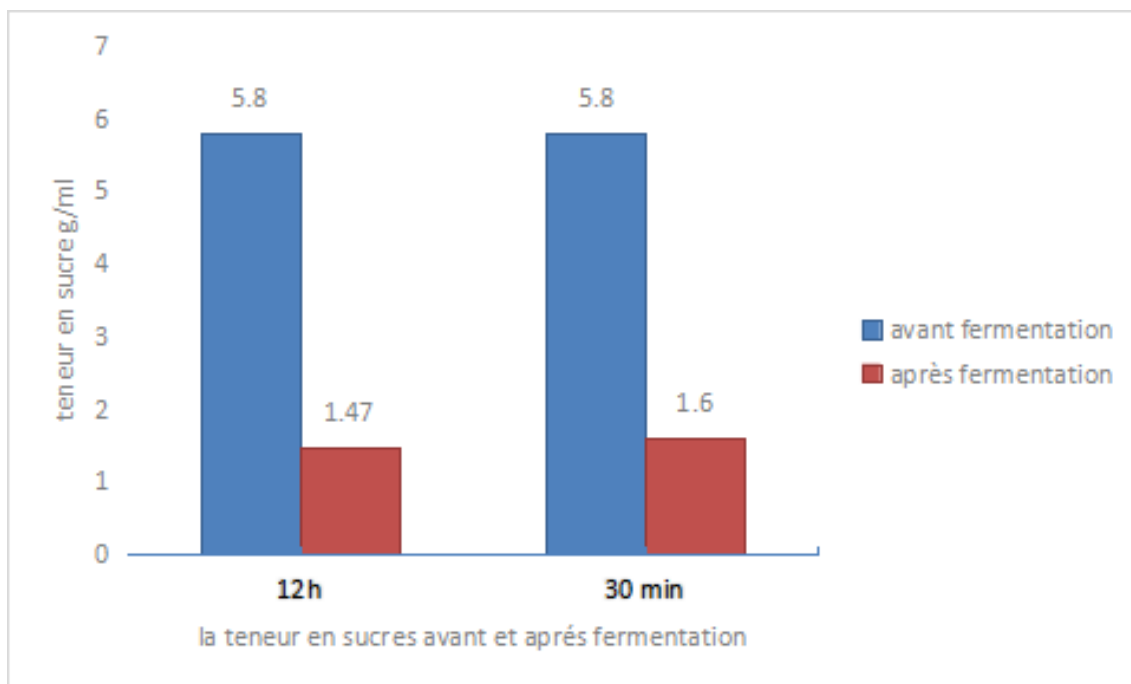


Figure 11 – Histogramme représentant la teneur en sucre avant et après la fermentation

de la teneur en sucre pendant la fermentation (**fig. 10**), ainsi que de comparer la teneur en sucre avant et après la fermentation (**fig. 11**). Pour les pré-cultures de 30 minutes et de 12 heures, une diminution significative de la teneur en sucre a été observée au cours de la fermentation de la mélasse. La concentration initiale de sucre de 5,8 g/mL \pm 0,01 a diminué respectivement pour les deux pré-cultures à 1,52 g/mL et à 1,49 g/mL \pm 0,03 après 166 heures. Cela est dû à la consommation du sucre (transformation du sucre en alcool au détriment de l'énergie libérée). Lors de la fermentation alcoolique, plusieurs changements peuvent apparaître : un dégagement de gaz carbonique, une augmentation de la température et de la couleur, un changement d'odeur et de saveur, et surtout une diminution de la densité (transformation du sucre en alcool) (**Burrillard L et al., 2016**).

Ces résultats confirment que la fermentation alcoolique entraîne une consommation du sucre, qui est transformé en alcool au détriment de l'énergie libérée. Cette observation est cohérente avec les connaissances existantes sur la fermentation alcoolique, qui est caractérisée par une diminution de la teneur en sucre au fil du temps. **Tasić et al. (2009)** ; **Arapoglou et al. (2010)** soutiennent cette interprétation en démontrant des variations de concentration en glucose lors de l'hydrolyse de différentes sources d'amidon.

La teneur en sucre avant et après la fermentation sur les deux précultures (pré-cultures de 12 heures et pré-culture de 30 minutes) est représentée par ce histogramme. Il est observé, avant la fermentation, que celle-ci est mesurée à $5,8 \text{ g/ml} \pm 0,05$ de moins sur les deux échantillons. Après fermentation, la teneur en sucre a été réduite à $1,47 \text{ g/ml} \pm 0,01$ pour l'échantillon de 12 heures et à $1,6 \pm 0,02$ pour la pré-culture de 30 minutes. Une diminution remarquable de la teneur en sucre est constatée après la fermentation, ce qui témoigne de la production d'éthanol. Cette observation met en évidence la diminution significative de la teneur en sucre de la mélasse, résultant de la dégradation du sucre par la consommation lors de la fermentation alcoolique et de sa transformation au cours de la glycolyse pour la production d'éthanol (**Kemp, 1967**).

Les résultats des dosages des sucres démontrent que lors de la fermentation alcoolique, les levures tirent leur énergie des sucres fermentescibles tels que le glucose et le fructose présents dans la mélasse. Ces sucres subissent une dégradation similaire, comme observé dans les figures précédentes, et cela a été confirmé par les travaux de **Mosher et al. (2017)**. Les levures métabolisent ces sucres en utilisant une série de réactions enzymatiques, notamment la glycolyse, le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative, afin de produire de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Ce processus de dégradation des sucres par les levures est crucial dans le contexte de la fermentation alcoolique.

5 Analyses spectroscopie infra-rouge

Selon la Table de données spectroscopiques – Spectres IR (**voir annexe 6**) ont déjà identifié Les bandes caractéristiques de l'éthanol 30 min et 12h et parmi elles on distingue

1. Pour l'éthanol de 12h :

- La bande entre 1200 et 1320 cm^{-1} , bande forte Caractéristique de la liaison $\text{C} = \text{O}$ de l'acide carboxylique.
- La bande entre $1700 - 1800 \text{ cm}^{-1}$, bande forte Caractéristique de la liaison $\text{C} = \text{O}$ de l'acide carboxylique.
- La bande entre 2900 à 3100 cm^{-1} , bande moyenne à forte caractéristique de la liaison c-H de l'acide carboxylique.
- La bande entre 3100 à 3500 cm^{-1} , bande forte et large caractéristique de la liaison O-H_i (liaison hydrogène) de l'alcool.

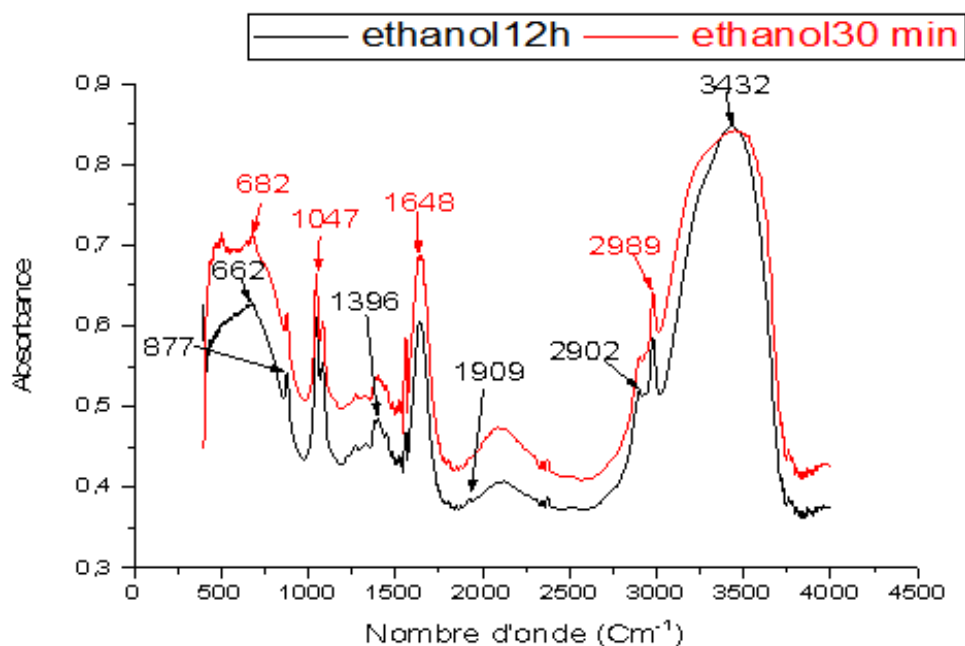


Figure 12 – Spectre FTIR du bioéthanol obtenu à partir de la mélasse par distillation.

2. Pour l'éthanol de 30 min :

- La bande entre 1000 et 1250, cm^{-1} , bande forte. Caractéristique de liaison C-C.
- La bande entre 1630 et 1710 cm^{-1} , bande forte. Caractéristique de liaison C=O des amides.
- La bande entre 2900 et 3100 cm^{-1} , bande moyenne à forte caractéristique de la liaison C-H de l'acide carboxylique.
- La bande entre 3100 à 3500 cm^{-1} , bande forte et large caractéristique de la liaison O-H_i (liaison hydrogène) de l'alcool.

Le spectre IR montre une bande large et intense autour de 3432 cm^{-1} chez l'éthanol produit après 30 minutes et 12 heures, qui caractérise le groupement hydroxyle de l'alcool.

Les bandes caractéristiques de la mélasse 12h après distillation :

- La bande entre 1200 et 1320 cm^{-1} , bande forte Caractéristique de la liaison C = O de l'acide carboxylique.
- La bande entre 1630 et 1710 cm^{-1} , bande forte caractéristique de la liaison C=O des amides.
- La bande entre 3050 et 3500 cm^{-1} , bande moyenne et large, caractéristique de la liaison N-H des amides substitués.

Le spectre IR montre une bande large et intense autour de 3447 cm^{-1} qui caractérise les amides

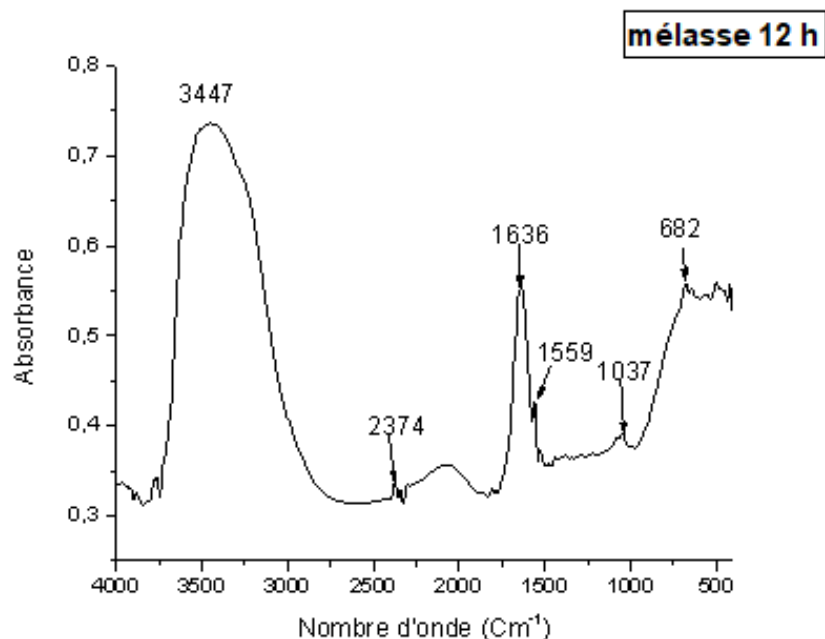


Figure 13 – Spectre FTIR de la mélasse restante après distillation.

substitués (l'amidon), qui rentre dans la composition de la mélasse.

En comparant les résultats de notre analyse infrarouge avec les résultats trouvés dans l'article **Abubakar K (2021)**., nous avons constaté une similitude systématique. Dans les deux spectres IR, nous avons observé la présence constante d'une bande large et intense autour de 3400 cm⁻¹ jusqu'à 3500 cm⁻¹, ce qui est cohérent avec la vibration de l'hydroxyle (-OH) dans les molécules d'alcool. Cette bande est généralement associée à l'étirement des liaisons hydrogène entre les molécules d'alcool.

6 Analyse statistique des échantillons

Les résultats de l'analyse statiques se trouve dans la matrice de corrélation suivante :

En faisant référence au tableau et au graphique en barres de valeurs propres, l'ACP montre que 100% de la variance totale est représenté sur les axes 1 et 2, avec 95,88% pour l'axe 1 et 4,12% pour l'axe 2 (**fig. 14**).

Tableau III – Corrélation entre le nombre de levure et teneur en sucre du milieu de culture.

Variables	Dénombrement	Teneur en sucre
Dénombrement	1	0.9175
Teneur en sucre	0.9175	1

Tableau IV – Tableau des valeurs propres

	F1	F2
Valeur propre	1.9175	0.0825
Variabilité (%)	95.8757	4.1243
Cumulé (%)	95.8757	100

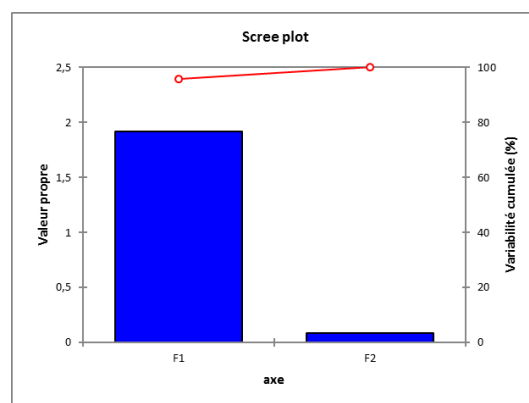


Figure 14 – Histogramme des valeurs propres

Cercle de corrélations :

Pour l'axe horizontale, on remarque une forte corrélation positive entre le dénombrement et la teneur en sucre (**fig. 15**).

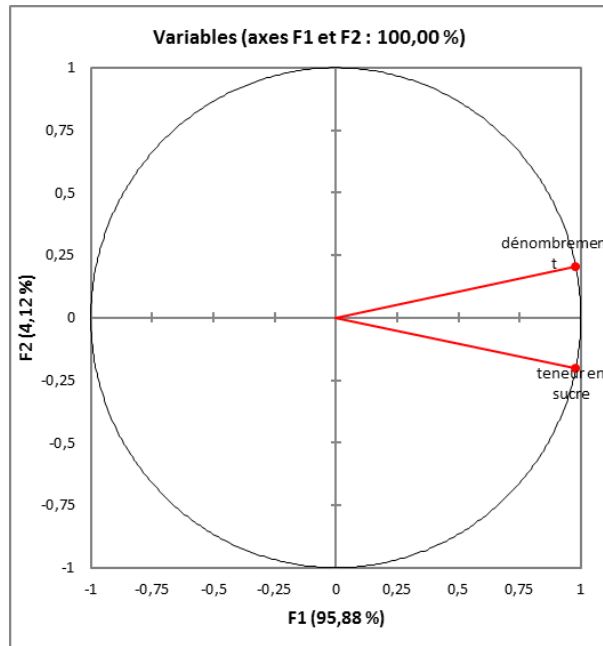


Figure 15 – Cercle de corrélation du nombre de levures et teneur en sucre

Graphique des observations étudiées :

En se référant à la figure au-dessus et le des cosinus carrés des observations (**voir annexe 6**) on remarque que tous les échantillons (E3024, E1224, E3048, E1248, E3072, E1272) se caractérisent d'un nombre élevé de micro-organismes et ceci est probablement due à la teneur faible en sucre qui est décomposé par les microorganismes lors de la fermentation.

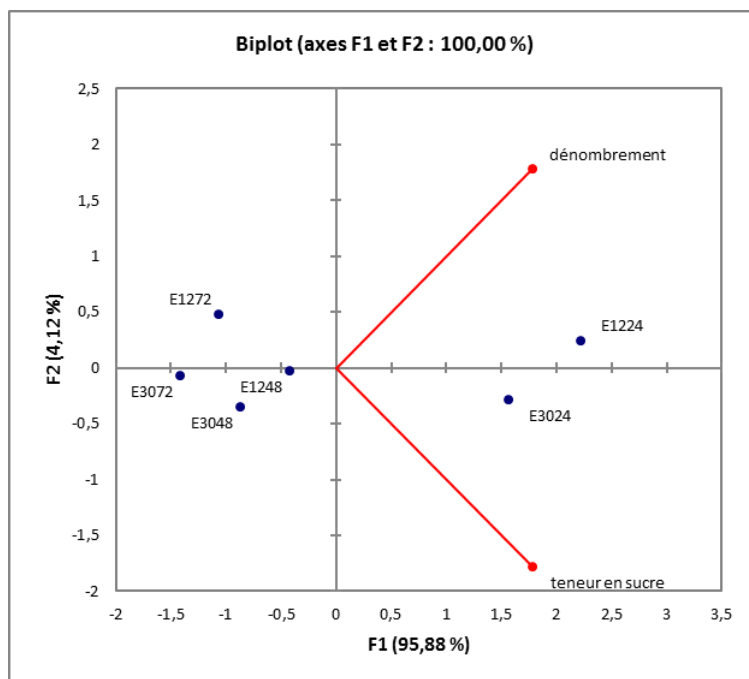


Figure 16 – Diagramme de double projection

Les études statistiques révèlent une corrélation positive très significative, mesurée à 0,91, entre le nombre de levures dans les deux pré-cultures et la quantité de sucre présente. En d'autres termes, cela signifie qu'il existe une relation proportionnelle entre ces deux variables.

Conclusion

L'objectif principal de ce projet est la production de bioéthanol à partir de la mélasse, en utilisant la voie de la fermentation alcoolique avec la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Dans le cadre de cette étude, des modifications biochimiques du processus de fermentation ont été étroitement surveillées. Des dosages des sucres totaux ont été réalisés à l'aide de la méthode d'Enthron, révélant une diminution significative de la teneur en sucre au cours de la fermentation. Les résultats ont montré que la teneur en sucre est passée de 5,8 mg/mL avant fermentation à 1,47 mg/mL pour les pré-cultures de 12 heures, et à 1,60 mg/mL pour les pré-cultures de 30 minutes. Cette diminution de la teneur en sucre a permis d'obtenir un bioéthanol de haute qualité avec une pureté atteignant 85% pour les pré-cultures de 12 heures, surpassant ainsi les résultats obtenus dans d'autres études menées au sein de notre université.

En parallèle, nous avons suivi attentivement la croissance des levures avant et pendant la fermentation, afin de comprendre la relation entre la teneur en sucre et la croissance des levures. En analysant les résultats, nous avons pu observer une corrélation entre la diminution de la teneur en sucre et la croissance des levures. Ces observations ont été complétées par l'utilisation du spectre IR, permettant de détecter la présence d'alcool dans le produit final, ainsi que de vérifier la présence du saccharose dans la mélasse.

Cette étude a principalement visé la valorisation de la mélasse, présentant ainsi des impacts positifs tant sur le plan économique qu'environnemental. De plus, elle a offert une opportunité précieuse de valoriser la mélasse issue de la raffinerie de sucre de CVITAL Bejaia. Par la mise en œuvre de mesures d'efficacité énergétique, cette recherche contribue activement à la lutte contre les changements climatiques et à la réduction des émissions de gaz à effet de serre.

Outre ses implications pratiques, ce projet ouvre également de nouvelles perspectives de recherche. Des études plus approfondies pourront être menées sur les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la mélasse de canne à sucre. De plus, l'utilisation d'autres souches de *Saccharomyces cerevisiae* plus compétentes pourrait être explorée. Ces initiatives ambitieuses s'inscrivent dans une volonté de favoriser le développement des énergies renouvelables en Algérie, tout en préservant l'environnement dans une perspective de développement durable.

Bibliographie

- Abubakar K, Cosmos M. Elinge, M. M. A. A. K. R. D. S. S. (2021). Characterization of bioethanol fuel from rice and corn straws : A comparative study. *Equity Journal of Science and Technology*, (1) :74–78.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. Garland, 4th edition.
- Almodares, Hadi M R A, U. M. (2018). Tproduction of bioethanol from molasses : A review. *Journal of Renewable Energy*, 122 :35–47.
- Amornpan, J. and Ketjoy, N. (2020). Ethanol production from molasses : A review. *MATEC Web of Conferences*, 333(03004).
- Anton, S. D., Moehl, K., Donahoo, W. T., Marosi, K., Lee, S. A., Mainous III, A. G., Leeuwenburgh, C., and Mattson, M. P. (2018). Flipping the metabolic switch : understanding and applying the health benefits of fasting. *Obesity*, 26(2) :254–268.
- Arapoglou, D., Varzakas, T., Vlyssides, A., and Israilides, C. (2010). Ethanol production from potato peel waste (ppw). *Waste Management*, 30(10) :1898–1902.
- Arimi, M. M., Zhang, Y., Götz, G., Kiriamiti, K., and Geißen, S.-U. (2014). Antimicrobial colorants in molasses distillery wastewater and their removal technologies. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 87 :34–43.
- Bahaa E. A. Saleh, M. C. T. (2019). *Fundamentals of Photonics*. 3 edition.
- Bakker, J. and Clarke, R. J. (2011). *Wine : flavour chemistry*. John Wiley & Sons.
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway : a review. *Energy conversion and management*, 52(2) :858–875.
- Banerjee R, M. A. (2018). Distillation of sugarcane molasses for bioethanol production : a review. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 51(10) :840–854.
- Basso, L. C., Basso, T. O., Rocha, S. N., et al. (2011). Ethanol production in brazil : the industrial process and its impact on yeast fermentation. *Biofuel production-recent developments and prospects*, 1530 :85–100.

- Berg, J. M. (2007). Glycolysis and gluconeogenesis. *Biochemistry*, 451.
- Bisson, L. F. and Butzke, C. E. (2000). Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *American journal of enology and viticulture*, 51(2) :168–177.
- Boer, V. M., Crutchfield, C. A., Bradley, P. H., Botstein, D., and Rabinowitz, J. D. (2010). Growth-limiting intracellular metabolites in yeast growing under diverse nutrient limitations. *Molecular biology of the cell*, 21(1) :198–211.
- Brown, A. (2021). Exploring molasses valorization for bioethanol production. *Journal of Sustainable Energy*, 25(3) :45–60.
- Burillard L, D., Glaz, K., Lobrot, M., and Marchand (2016). *Rapport sur les fermentations alimentaires*. PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure d’Agronomie et des Industries Alimentaires.
- Caspeta, L., Chen, Y., Ghiaci, P., Feizi, A., Buskov, S., Hallström, B. M., Petranovic, D., and Nielsen, J. (2014). Altered sterol composition renders yeast thermotolerant. *Science*, 346(6205) :75–78.
- Chebli, M. (2016). *La bière : Production, Consommation et Santé Publique*. PhD thesis, Laboratoire de Pharmacie galénique et Génie pharmaceutique, Université de
- Chen, H., C. R. . Y. G. (2016). Environmental and economic assessment of bioethanol production from sugarcane : A case study in southern china. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55 :620–627.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3) :294–306.
- Demirbas, A. (2008). Bioethanol from cellulose : A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(11) :2599–2617.
- Eide, D. J., Clark, S., Nair, T. M., Gehl, M., Gribskov, M., Guerinot, M. L., and Harper, J. F. (2005). Characterization of the yeast ionome : a genome-wide analysis of nutrient mineral and trace element homeostasis in *saccharomyces cerevisiae*. *Genome biology*, 6 :1–13.
- Elvers, B. et al. (1991). *Ullmann’s encyclopedia of industrial chemistry*, volume 17. Verlag Chemie Hoboken, NJ.

- Feldmann, H. (2011). *Yeast : molecular and cell biology*. John Wiley & Sons.
- Fennouche, I. (2017). Production de bioéthanol à partir de résidus d'agriculture. Master's thesis, Badji Mokhtar-Annaba university.
- Formann, S., Hahn, A., Janke, L., Stinner, W., Sträuber, H., Logroño, W., and Nikolausz, M. (2020). Beyond sugar and ethanol production : value generation opportunities through sugarcane residues. *Frontiers in Energy Research*, 8 :579577.
- Garcia-Martinez., e. a. (2018). Monitoring yeast cell population dynamics during alcoholic fermentation using flow cytometry. *Food Research International*, pages 216–222.
- Gheewala, S. H., . S. T. (2008). Life cycle assessment of fuel ethanol derived from sugarcane in thailand. *Biomass and Bioenergy*, 32(12) :1144–1155.
- Gibson, B. and Liti, G. (2015). *Saccharomyces pastorianus* : genomic insights inspiring innovation for industry. *Yeast*, 32(1) :17–27.
- Gírio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S., and Bogel-Lukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol : a review. *Bioresource technology*, 101(13) :4775–4800.
- Gopal, A. R. and Kammen, D. M. (2009). Molasses for ethanol : the economic and environmental impacts of a new pathway for the lifecycle greenhouse gas analysis of sugarcane ethanol. *Environmental Research Letters*, 4(4) :044005.
- Griffiths, P. and de Haseth, J. (2007). *Fourier Transform Infrared Spectrometry*. John Wiley Sons.
- Guerrien, M. (2003). L'intérêt de l'analyse en composantes principales (acp) pour la recherche en sciences sociales. présentation à partir d'une étude sur le mexique. *Cahiers des Amériques latines*, (43) :181–192.
- Honig, P. (1953). *Principles of Sugar Technology*. Edited by P. Honig. Elsevier Publishing Company.
- Humbird, D., Davis, R., Tao, L., Kinchin, C., Hsu, D., Aden, A., Schoen, P., Lukas, J., Olthof, B., Worley, M., et al. (2011). Process design and economics for biochemical conversion

- of lignocellulosic biomass to ethanol : dilute-acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. Technical report, National Renewable Energy Lab.(NREL), Golden, CO (United States).
- Jamir, L., Kumar, V., Kaur, J., Kumar, S., and Singh, H. (2021). Composition, valorization and therapeutical potential of molasses : a critical review. *Environmental Technology Reviews*, 10(1) :131–142.
- JHA, S. N. and MATSUOKA, T. (2000). Non-destructive techniques for quality evaluation of intact fruits and vegetables. *Food Science and Technology Research*, 6(4) :248–251.
- Johnson, M. D., A. J. W. . K. R. P. (2018). Organic phosphonate metabolism by escherichia coli and other enterobacteriaceae. *Journal of Bacteriology*, page 200.
- Jolliffe, I. T. (2002). *Principal component analysis for special types of data*. Springer.
- Jones, H. D., D. A. . W. H. (2015). Review of methods for assessing nitrogen use efficiency in higher plants. *Annual Plant Reviews online*, pages 169–182.
- Kemp, M. B., . Q. J. R. (1967). Microbial growth on c1 compounds. uptake of [14c]formaldehyde and [14c]formate by methane-grown pseudomonas methanica and determination of the hexose labelling pattern after brief incubation with [14c]methanol. *The Biochemical journal*, 102(1) :94–102.
- Kundiyan, D. K., Huhnke, R. L., and Wilkins, M. R. (2010). Syngas fermentation in a 100-l pilot scale fermentor : Design and process considerations. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109(5) :492–498.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., and Boekhout, T. (2011). *The yeasts : a taxonomic study*. Elsevier.
- Lali, A. M. (2015). Molasses as a potential low-cost substrate for ethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 51 :1636–1642.
- Larpent, J. (1991). *Biotechnologie des levures*. Biotechnologies (Masson). Masson.
- Liang, Y., Zhang, B., Zheng, W., Xing, L., and Li, M. (2011). Alkaline stress triggers an immediate calcium fluctuation in candida albicans mediated by rim101p and crz1p transcription factors. *FEMS Yeast Research*, 11(5) :430–439.

- Margaritis, A. and Merchant, R. (1990). Single cell protein from waste biomass : fermentation kinetics and reactor design. *Journal of chemical technology and biotechnology*, 47(3) :173–186.
- Meghana, M. and Shastri, Y. (2020). Sustainable valorization of sugar industry waste : Status, opportunities, and challenges. *Bioresource technology*, 303 :122929.
- Mordenti, A. L., Giaretta, E., Campidonico, L., Parazza, P., and Formigoni, A. (2021). A review regarding the use of molasses in animal nutrition. *Animals*, 11(1) :115.
- Mosher, M., Trantham, K., and Mosher (2017). *Brewing science : A multidisciplinary approach*. Springer.
- Narendranath, N. V. and Power, R. (2005). Relationship between ph and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of lactobacilli and saccharomyces cerevisiae during ethanol production. *Applied and environmental microbiology*, 71(5) :2239–2243.
- Pienkos, P. T. and Darzins, A. (2009). The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining : Innovation for a sustainable economy*, 3(4) :431–440.
- Preston, R. (2007). Anthrone method for the determination of carbohydrates. *In Methods in Molecular Biology*, 50 :3–6.
- Pretorius, I. S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium : novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*, 16(8) :675–729.
- Racker, E. (1974). History of the pasteur effect and its pathobiology. *Molecular and cellular biochemistry*, 5 :17–23.
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., and Aikat, K. (2012). Bioethanol production from agricultural wastes : an overview. *Renewable energy*, 37(1) :19–27.
- Sgarbieri, V. C., . Y. L. K. O. (2014). Sugarcane by-products and their utilization for ethanol production. *In Bioethanol*, pages 63–80.
- Singh, A. and Jain, S. (2018). Bioethanol production from molasses : Recent trends, challenges and future prospects. *Indian Journal of Microbiology*, 58(3) :278–287.

- Smith, J. e. a. (2014). Bioethanol production from molasses : a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31 :446–455.
- Smith, M., Yagan, D., Zidar, O., and Zwick, E. (2019). Capitalists in the twenty-first century. *The Quarterly Journal of Economics*, 134(4) :1675–1745.
- Smith, J. D., S. D. L. . S. J. (2010). Nitrogen assimilation and the control of nitrogen assimilation in microorganisms. *Nitrogen in the environment*, 2 :37–69.
- Strehaiano, P., Mota, M., and Goma, G. (1983). Effects of inoculum level on kinetics of alcoholic fermentation. *Biotechnology Letters*, 5 :135–140.
- Swain, M., Kar, S., Sahoo, A., and Ray, R. (2007). Ethanol fermentation of mahula (*madhuca latifolia* l.) flowers using free and immobilized yeast *saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Research*, 162(2) :93–98.
- Taherzadeh, M. J., . K. K. (2007). Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials : a review. *BioResources*, 2(4) :707–738.
- Tasić, M. B., Konstantinović, B. V., Lazić, M. L., and Veljković, V. B. (2009). The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. *Biochemical engineering journal*, 43(2) :208–211.
- Théo (2014). Les techniques de distillation.
- Varela, C. and Borneman, A. R. (2017). Yeasts found in vineyards and wineries. *Yeast*, 34(3) :111–128.
- Verduyn, C., Postma, E., Scheffers, W. A., and Van Dijken, J. P. (1992). Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts : a continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. *Yeast*, 8(7) :501–517.
- Walker, G. M. (1998). *Yeast physiology and biotechnology*. John Wiley & Sons.
- Walker, G. M. and Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4) :30.
- Yan, S., Chen, X., Wu, J., and Wang, P. (2013). Pilot-scale production of fuel ethanol from concentrated food waste hydrolysates using *saccharomyces cerevisiae* h058. *Bioprocess and biosystems engineering*, 36 :937–946.

Bibliographie

Zhang, Y.-H. P. and Lynd, L. R. (2004). Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose : noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and bioengineering*, 88(7) :797–824.

Zyaykina, N., S. O. . T. A. (2017). Bioethanol production from food waste : A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, pages 581–596.

Annexes

Annexe : Récupération de la mélasse de « CEVITAL »

Après l'arrivée du bateau, des échantillons de matières premières sont prélevés afin de constituer un bulletin d'analyse contradictoire. Ensuite, ces matières premières sont entreposées dans un hangar avant d'être acheminées vers la trémie (T100) par le biais d'un tapis roulant et d'un dispositif de levage (A102). Elles subissent ensuite plusieurs étapes de raffinage dans différentes sections.

Section 1 : Affinage et refonte

L'objectif de cette phase est d'éliminer les impuretés qui se trouvent à la surface des cristaux en les agitant dans un sirop saturé en sucre.

Section 2 : Carbonatation

Le processus de traitement du sirop de refonte consiste à le traiter avec une solution de chaux (appelée également lait de chaux) dans le but d'éliminer les impuretés dissoutes ou en suspension par décantation et filtration. Ensuite, cette solution de chaux est saturée avec du dioxyde de carbone (CO₂) pour créer un précipité de carbonate de calcium (CaCO₃) qui retient les substances qui ne sont pas du sucre.

Section 3 : Filtration

L'objectif de la filtration consiste à éliminer les particules de carbonate de calcium en suspension dans le sirop carbonaté et à récupérer le jus restant après le lavage des gâteaux à travers les filtres à presse, afin de l'utiliser dans la préparation du lait de chaux.

Section 4 : Décoloration

Il s'agit d'une étape visant à diminuer la concentration de colorants dans le sirop obtenu après la purification, jusqu'à atteindre une réduction de 80%. Cette opération est réalisée à l'aide de résines échangeuses d'ions dans le but d'optimiser le processus de cristallisation.

Section 5 : Concentration

L'objectif de l'évaporation ou de la concentration est de retirer l'excès d'eau présent dans le sirop.

Section 6 : Cristallisation

La cristallisation de sucre est un processus qui permet d'isoler le saccharose présent dans le jus concentré, tout en laissant les impuretés dans le liquide, donnant ainsi une solution résiduelle épuisée en fin de processus.

C'est une étape qui nous permet de récupérer la mélasse.

Cristallisation Haut Produit (HP) :

En général, ce processus se déroule en trois étapes, chacune comprenant trois sous-étapes distinctes : la cuisson, le malaxage et le turbinage. Le premier jet produit un sirop alimentaire appelé "liqueur standard", tandis que les cristaux qui se forment pendant la cristallisation constituent ce qu'on appelle la "masse cuite". Le sirop qui entoure ces cristaux est appelé "eau de mère" car il nourrit les cristaux en croissance.

Pendant le processus d'essorage des cristaux, l'eau qui les entoure et qui est connue sous le nom d'eau de mère, devient ce qu'on appelle l'« égout pauvre ». Cette eau est également appelée la masse cuite. Lorsque cette eau est utilisée pour le lavage du sucre dans les turbines centrifugeuses, elle est considérée comme l'« égout riche ».

Après l'obtention du sucre, il est envoyé pour séchage, tandis que l'égout contenant encore du sucre cristallisable est réutilisé pour une nouvelle cristallisation, ce qui se répète trois fois. Le dernier résidu obtenu, qui n'est pas assez pur pour produire un sucre raffiné, est alors utilisé dans la cristallisation de produits à plus faible qualité.

Cristallisation Bas Produit (BP) :

Cette partie du processus implique trois étapes (jets) dans des cuves suivies d'une centrifugation pour extraire le sucre des eaux usées provenant soit de la production de cuites à haute pureté, soit des eaux usées pauvres en sucre issues du raffinage.

Les effets de la cristallisation HP sont comparables à ceux de la cuisson. Le sucre A résultant de la première étape peut être utilisé tel quel sous forme de sucre brun ou fondu de nouveau pour être réincorporé dans le processus de raffinage. Les sous-produits B et C ne sont utilisés

que comme compléments pour épuiser davantage le sucre.

La mélasse est le résidu non cristallisable constitué de sucres et de non-sucres présent dans l'égout final obtenu après la centrifugation de la masse cuite C.

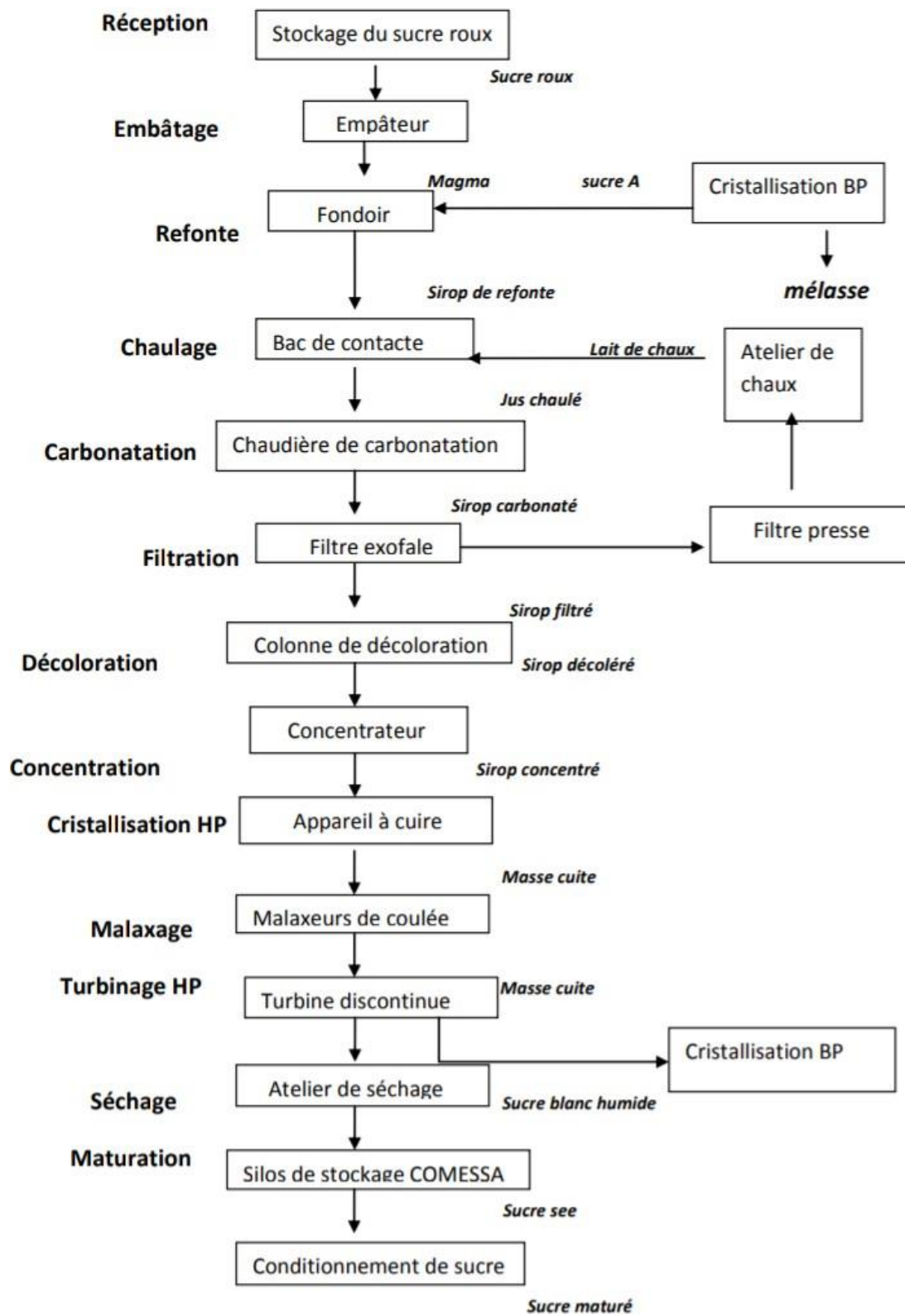
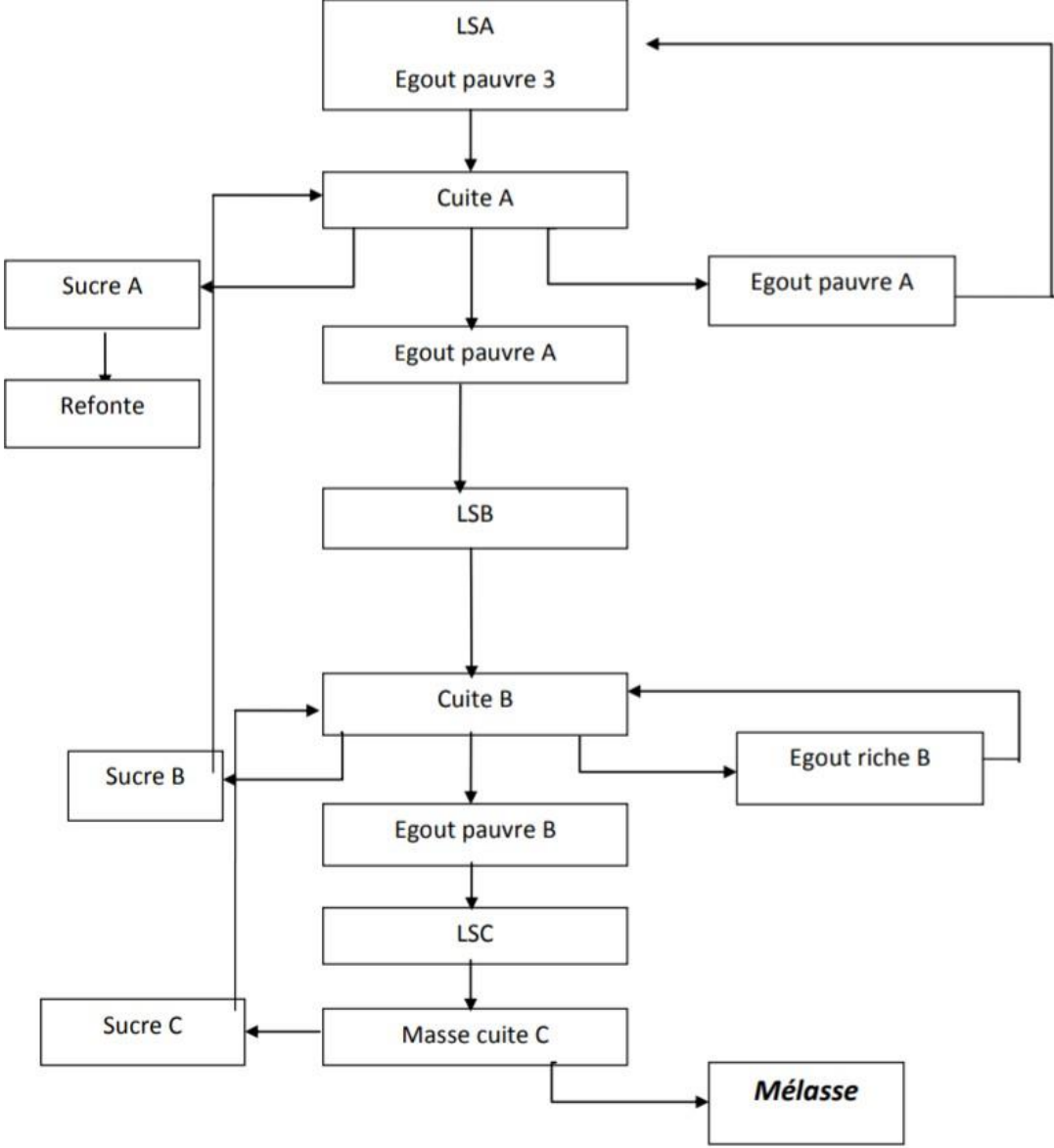


Figure 17 – Schéma général du processus de raffinage du sucre roux chez CEVITAL.



LSA : liqueur standard A.
LSB : liqueur standard B.
LSC : liqueur standard C.

Figure 18 – Schéma synoptique de l’atelier de cristallisation des produits de basse pureté.

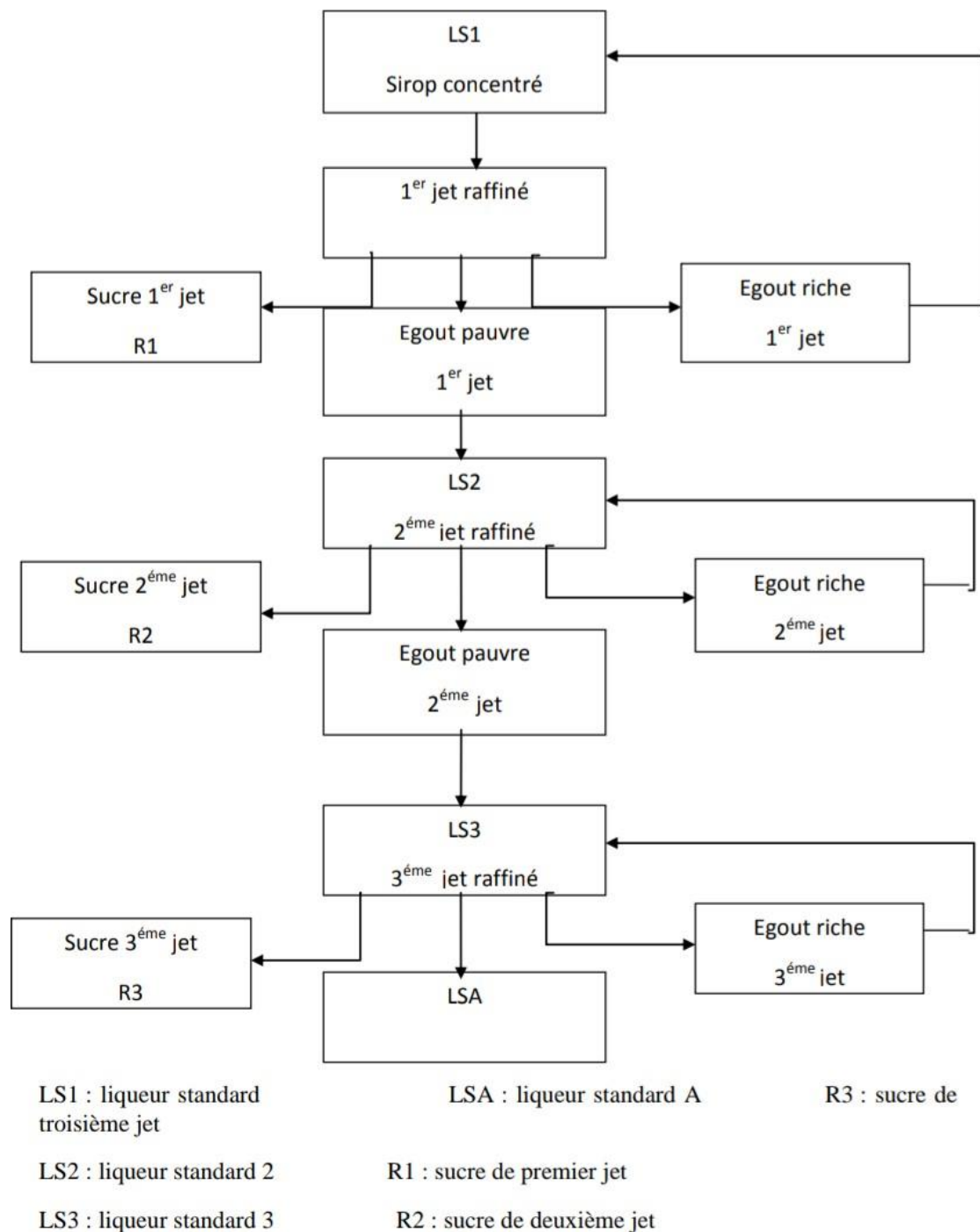


Figure 19 – Schéma synoptique de l'atelier de cristallisation des produits de haute pureté.

Annexe : Courbe d'étalonnage

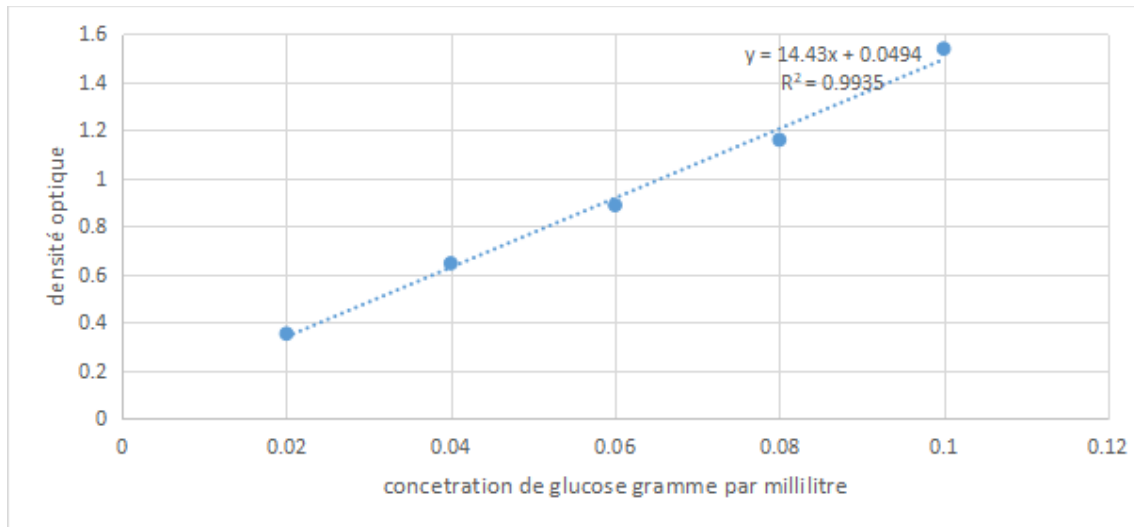


Figure 20 – Courbe d'étalonnage du glucose

Annexe : Concentrations gravimétriques

Concentration (in weight %) of Ethanol-Water Mixture vs. Specific Gravity at various Temperature

wt % Ethanol	Temperature (degC)				wt % Ethanol	Temperature (degC)			
	20	25	30	35		20	25	30	35
0	0.99823	0.99708	0.99568	0.99406	50	0.91384	0.90985	0.90580	0.90168
1	0.99636	0.9952	0.99379	0.99217	51	0.91160	0.90760	0.90353	0.89940
2	0.99453	0.99336	0.99194	0.99031	52	0.90936	0.90534	0.90125	0.89710
3	0.99275	0.99157	0.99014	0.98849	53	0.90711	0.90307	0.89896	0.89479
4	0.99103	0.98984	0.98839	0.98672	54	0.90485	0.90079	0.89667	0.89248
5	0.98938	0.98817	0.98679	0.98501	55	0.90258	0.89850	0.89437	0.89016
6	0.9878	0.98656	0.98507	0.98335	56	0.90031	0.89621	0.89206	0.88784
7	0.98627	0.98500	0.98347	0.98172	57	0.89803	0.89392	0.88975	0.88552
8	0.98478	0.98346	0.98189	0.98009	58	0.89574	0.89162	0.88744	0.88319
9	0.98331	0.98193	0.98031	0.97846	59	0.89344	0.88931	0.88512	0.88085
10	0.98187	0.98043	0.97875	0.97685	60	0.89113	0.88699	0.88278	0.87851
11	0.98047	0.97897	0.97723	0.97527	61	0.88882	0.88446	0.88044	0.87615
12	0.97910	0.97753	0.97573	0.97371	62	0.88650	0.88233	0.87809	0.87379
13	0.97775	0.97611	0.97424	0.97216	63	0.88417	0.87998	0.87574	0.87142
14	0.97643	0.97472	0.97278	0.97063	64	0.88183	0.87763	0.87337	0.86905
15	0.97514	0.97334	0.97133	0.96911	65	0.87948	0.87527	0.87100	0.86667
16	0.97387	0.97199	0.96990	0.9676	66	0.87713	0.87291	0.86863	0.86429
17	0.97259	0.97062	0.96844	0.96607	67	0.87477	0.87054	0.86625	0.86190
18	0.97129	0.96923	0.96697	0.96452	68	0.87241	0.86817	0.86387	0.85950
19	0.96997	0.96782	0.96547	0.96294	69	0.87004	0.86579	0.86148	0.85710
20	0.96864	0.96639	0.96395	0.96134	70	0.86766	0.86340	0.85908	0.85470
21	0.96729	0.96495	0.96242	0.95973	71	0.86527	0.86100	0.85667	0.85228
22	0.96592	0.96348	0.96087	0.95809	72	0.86287	0.85859	0.85426	0.84986
23	0.96453	0.96199	0.95929	0.95643	73	0.86047	0.85618	0.85184	0.84743
24	0.96312	0.96048	0.95769	0.95476	74	0.85806	0.85376	0.84941	0.84500
25	0.96168	0.95895	0.95607	0.95306	75	0.85564	0.85134	0.84698	0.84257
26	0.96020	0.95738	0.95442	0.95133	76	0.85322	0.84891	0.84455	0.84013
27	0.95867	0.95576	0.95272	0.94995	77	0.85079	0.84647	0.84211	0.83768
28	0.95710	0.95410	0.95098	0.95774	78	0.84835	0.84403	0.83966	0.83523
29	0.95548	0.95241	0.94922	0.94590	79	0.84590	0.84158	0.83720	0.83277
30	0.95382	0.95067	0.94741	0.94403	80	0.84344	0.83911	0.83473	0.83029
31	0.95212	0.94890	0.94557	0.94214	81	0.84096	0.83664	0.83224	0.82780
32	0.95038	0.94709	0.94370	0.94021	82	0.83848	0.83415	0.82974	0.82530
33	0.94860	0.94525	0.94180	0.93825	83	0.83599	0.83164	0.82724	0.82279
34	0.94679	0.94337	0.93986	0.93626	84	0.83348	0.82913	0.82473	0.82027
35	0.94494	0.94146	0.93790	0.93425	85	0.83095	0.82660	0.82220	0.81774
36	0.94306	0.93952	0.93591	0.93221	86	0.82840	0.82405	0.81965	0.81519
37	0.94114	0.93756	0.93390	0.93016	87	0.82583	0.82148	0.81708	0.81262
38	0.93919	0.93556	0.93186	0.92808	88	0.82323	0.81888	0.81448	0.81003
39	0.93720	0.93353	0.92979	0.92597	89	0.82062	0.81626	0.81186	0.80742
40	0.93518	0.93148	0.92770	0.92385	90	0.81797	0.81362	0.80922	0.80478
41	0.93314	0.92940	0.92558	0.92170	91	0.81529	0.81094	0.80655	0.80211
42	0.93107	0.92729	0.92344	0.91952	92	0.81257	0.80823	0.80384	0.79941
43	0.92897	0.92516	0.92128	0.91733	93	0.80983	0.80549	0.80111	0.79669
44	0.92685	0.92301	0.91910	0.91513	94	0.80705	0.80272	0.79835	0.79393
45	0.92472	0.92085	0.91692	0.91291	95	0.80424	0.79991	0.79555	0.79114
46	0.92257	0.91868	0.91472	0.91069	96	0.80138	0.79706	0.79271	0.78831
47	0.92041	0.91649	0.91250	0.90845	97	0.79846	0.79415	0.78991	0.78542
48	0.91823	0.91426	0.91028	0.90621	98	0.79547	0.79117	0.78684	0.78247
49	0.91604	0.91208	0.90805	0.90396	99	0.79543	0.78814	0.78382	0.77946
					100	0.78934	0.78506	0.78075	0.77641

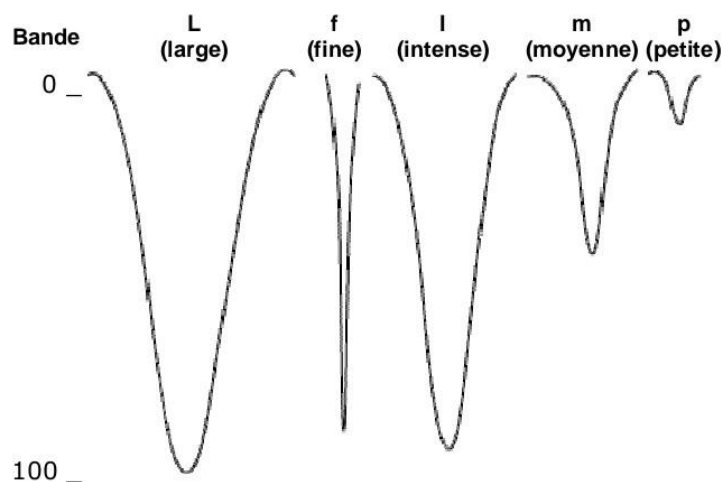
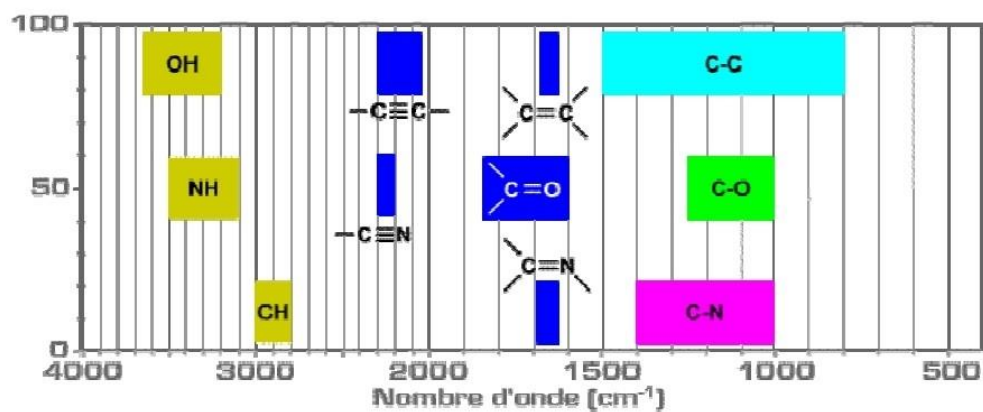
NOTE: Numbers obtained from Table 3-110 (pg.3-89) "Perry's Chemical Engineers' Handbook", 6th Ed.

Figure 21 – Concentration gravimétrique spécifique de l'éthanol à différentes températures.

Annexe : Spectres IR

Document 3 : Table de données spectroscopiques – Spectres IR

Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité et commentaire
Liaison OH libre	Entre 3500 et 3700 cm ⁻¹	Bande fine et moyenne.
Liaison OH liée (liaison hydrogène)	Entre 3100 et 3500 cm ⁻¹	Bande forte et large.
Liaison N-H	Entre 3050 et 3500 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison C=O	Entre 1700 et 1800 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison C-H	Entre 2900 et 3100 cm ⁻¹	Bande moyenne à forte
Liaison C=O des esters	Entre 1700 et 1750 cm ⁻¹	Bande forte.
	Entre 1660 et 1740 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison C=O des amides	Entre 1630 et 1710 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison C-H de CHO	Entre 2650 et 2800 cm ⁻¹	Bande moyenne.
Liaison OH des acides carboxyliques	Entre 2500 et 3300 cm ⁻¹	Bande forte et large.
Liaison C-O des acides carboxyliques	Entre 1200 et 1320 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison C-O des esters	Entre 1210 et 1260 cm ⁻¹	Bande forte.
Liaison NH des amides	Entre 3050 et 3500 cm ⁻¹	Deux bandes moyennes larges.
Liaison NH des amides substituées	Entre 3050 et 3400 cm ⁻¹	Bande moyenne large.



D'après : <http://uel.unisciel.fr/chimie/spectro/spectro/co/spectro.html>

Figure 22 – Bandes des spectres IR.

Annexe : Variables

Tableau V – Tableau des valeurs statistiques

Variable	Observation	Manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Écart type
Dénombrement	6	0	4,3000	10,0000	6,4500	2.2296
Teneur en sucre	6	0	0,4020	2,2510	1,2147	0,8122

Tableau VI – Tableau des valeurs propres

	F1	F2
Dénombrement	0.9588	0.0412
Teneur en sucre	0.9588	0.0412

Tableau VII – Tableau des valeurs propres

	F1	F2
E3024	0.9684	0.0316
E1224	0.9880	0.00120
E3048	0.8652	0.1348
E1248	0.9969	0.0031
E3072	0.9974	0.0026
E1272	0.8327	0.1673

Résumé

Une solution privilégiée est offerte par les procédés biotechnologiques actuels pour valoriser la biomasse végétale et produire des bioénergies alternatives aux combustibles fossiles en utilisant des produits agricoles à faible valeur commerciale. L'objectif visé dans cette étude était l'obtention de bioéthanol par la valorisation de la mélasse de canne à sucre issue de la raffinerie de sucre Cevital Bejaia, en utilisant le procédé de fermentation anaérobie avec la souche de levures *Saccharomyces cerevisiae*. Des analyses physicochimiques et biochimiques ont été réalisées sur la mélasse avant et après fermentation alcoolique, notamment le dosage des sucres totaux et la densité de l'éthanol, afin d'évaluer la qualité et de suivre les changements biochimiques en cours de fermentation. Par la suite, une hydrodistillation a été effectuée pour récupérer le bioéthanol. Les résultats de notre étude ont clairement démontré que la mélasse est une source extrêmement riche en saccharose, ce qui en fait une matière première excellente pour la fermentation alcoolique et la production de bioéthanol.

Mots-clés : mélasse, bioéthanol, biocarburant, *saccharomyces cerevisiae*

Abstract

The current biotechnological processes offer an ideal solution for exploiting plant biomass and generating bioenergy as an alternative to fossil fuels, using agricultural products with a low commercial value. The aim of this study was to obtain bioethanol by valorising sugarcane molasses from the Cevital Bejaia sugar refinery, using the anaerobic fermentation process with a strain of yeast called *Saccharomyces cerevisiae*. Physicochemical and biochemical analyses were carried out on the molasses before and after alcoholic fermentation, including the determination of total sugars and ethanol density, in order to assess quality and monitor biochemical changes during fermentation. Hydrodistillation was then carried out to recover the bioethanol. The results of our study clearly demonstrated that molasses provides an extremely rich source of sucrose, making it an excellent raw material for alcoholic fermentation and bioethanol production.

Keywords: molasses, bioethanol, biofuel, *saccharomyces cerevisiae*